

**Aus dem Institut für Klinische Chemie
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. D. Seidel**

**Die prognostische Aussagekraft
tumorassoziierter Antigene beim
nicht-metastasierten kolorektalen Karzinom**

Dissertation

**Zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

Vorgelegt von

**Dominik Hofmann
aus München**

2007

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. h.c. D.Seidel

Mitberichterstatter: Prof. Dr. G. Sauter
Prof. Dr. W. Heldwein
Prof. Dr. J. Johnson

Mitbetreuung durch die
promovierte Mitarbeiterin: Frau Dr. med. Petra Stieber

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 29.03.2007

Gewidmet meiner Familie

Beiträge auf internationalen Kongressen in Form von Abstracts:

11/2002	Kongress für Laboratoriumsmedizin 2002, Düsseldorf (Poster)
08/2003	XXXIst Meeting of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine, ISOBM, Edinburgh, United Kingdom (Poster)
09/2005	XXXIIIrd Meeting of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine, ISOBM, Rhodes, Greece (Poster)

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	1
1.1	Epidemiologie des kolorektalen Karzinoms	1
1.2	Ätiologie.....	2
1.3	Vorsorge und Klinik.....	4
1.4	Diagnostik des kolorektalen Karzinoms	5
1.5	Spezielle Vorsorge und Diagnostik bei Risikopatienten	6
1.6	Histopathologische Aspekte.....	7
1.6.1	Lokalisation	7
1.6.2	Histologische Typen und Grading.....	7
1.6.3	Tumorklassifikation	8
1.6.4	Metastasierung	9
1.6.5	Lokoregionäres Rezidiv	11
1.7	Therapieverfahren	11
1.7.1	Kolon	11
1.7.1.1	Operative Verfahren	11
1.7.1.2	Adjuvante Verfahren	13
1.7.2	Rektum	14
1.7.2.1	Operative Verfahren	14
1.7.2.2	Adjuvante Verfahren	15
1.7.3	Therapie bei Metastasierung	16
1.8	Nachsorge	16
1.9	Prognose	18
1.10	Tumormarker beim Kolorektalen Karzinom.....	21
1.11	Fragestellung.....	26
2	MATERIAL UND METHODE	28
2.1	Patienten.....	28
2.2	Übersicht	29
2.2.1	CEA	33
2.2.2	CA 19-9	33
2.2.3	CA 19-9, CA 72-4, CYFRA 21-1, S100	34
2.2.4	CA 242	34
2.2.5	hCGB	35

2.2.6	HGF	36
2.3	Methodenvergleich	36
2.4	Statistik	41
2.4.1	Cut-Off-Bestimmung	42
2.4.2	Coxsches Regressionsmodell	42
2.4.3	Prognose-Index	43
3	ERGEBNISSE	44
3.1	Kollektiv I (n=1089)	44
3.1.1	Tumormarker	44
3.1.1.1	CEA: Werteverteilung	44
3.1.1.2	CA 19-9: Werteverteilung	44
3.1.1.3	Korrelationen	47
3.1.1.4	Cut-Off-Bestimmung	47
3.1.2	Univariate Analyse	49
3.1.2.1	Rezidivierung	49
3.1.2.2	Überleben	65
3.1.3	Multivariate Analyse	79
3.1.3.1	Rezidivierung	79
3.1.3.2	Überleben	79
3.1.4	Prognose-Index	82
3.2	Kollektiv II (n=450)	87
3.2.1	Tumormarker	87
3.2.1.1	CEA: Werteverteilung	87
3.2.1.2	CA 19-9: Werteverteilung	87
3.2.1.3	CA 242: Werteverteilung	88
3.2.1.4	CA 72-4: Werteverteilung	88
3.2.1.5	CYFRA 21-1: Werteverteilung	88
3.2.1.6	hCGß: Werteverteilung	89
3.2.1.7	S100: Werteverteilung	89
3.2.1.8	HGF: Werteverteilung	89
3.2.1.9	Korrelationen	96
3.2.1.10	Cut-Off-Bestimmung	96
3.2.2	Univariate Analyse	107
3.2.2.1	Rezidivierung	108

3.2.2.2	Überleben	127
3.2.3	Multivariate Analyse	146
3.2.3.1	Rezidivierung	146
3.2.3.2	Überleben	146
4	DISKUSSION	151
5	ZUSAMMENFASSUNG	160
6	LITERATURVERZEICHNIS	163

1 EINLEITUNG

1.1 Epidemiologie des kolorektalen Karzinoms

Inzidenz und Mortalität

Kolon- und Rektumkarzinome zählen mit mehr als 900.000 Neuerkrankungsfällen im Jahr 2000 weltweit zu den vierthäufigsten Karzinomen für beide Geschlechter (Parkin, 2001). Die Häufigkeit des kolorektalen Karzinoms differiert sehr stark in Abhängigkeit von der geographischen Region. Die niedrigste Inzidenz findet sich in Asien, Südamerika und Südafrika, die höchste in den westlichen Industrienationen. Griechenland, Spanien und Finnland weisen die niedrigsten Inzidenzen in den EU-Ländern auf (RKI, 2004). Deutschland steht bezüglich der Neuerkrankungsrate bei Frauen und bei Männern an erster Stelle.

Im Jahr 2000 sind nach einer Schätzung des Robert-Koch-Institutes mehr als 65000 Menschen (32602 Männer und 34175 Frauen) neu an Darmkrebs erkrankt. Der Anteil an allen Krebserkrankungen lag bei Männern aller Altersgruppen insgesamt bei 16,3, bei Frauen bei 17,6 Prozent.

Das kolorektale Karzinom ist bei Männern nach dem Prostatakarzinom und bei Frauen nach dem Mammakarzinom die häufigste Tumorerkrankung in Deutschland [Abbildung 1].

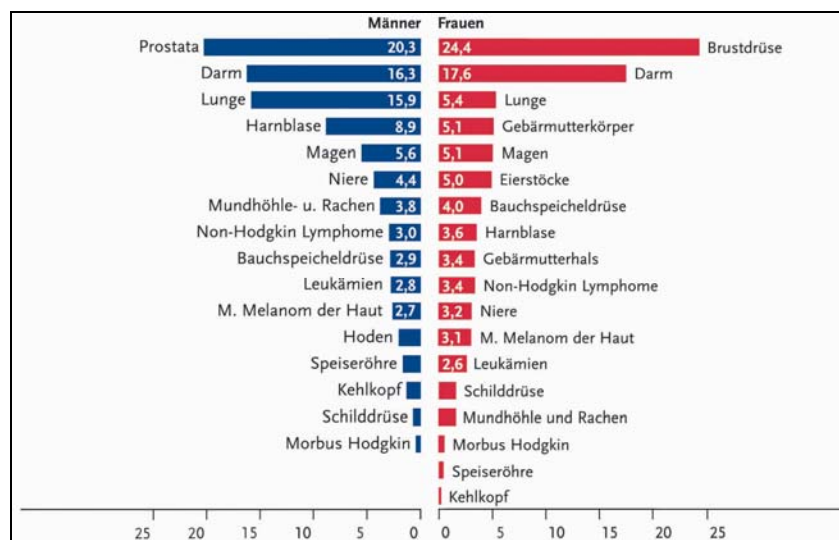


Abbildung 1: Prozentualer Anteil an der geschätzten Zahl der Krebsneuerkrankungen in Deutschland im Jahr 2000. Männer n=200.018, Frauen n=194.662. Aus: Krebs in Deutschland. 4. Auflage 2004. Robert Koch Institut.

Von 1960 bis 1980 ist die Inzidenz des kolorektalen Karzinoms bei beiden Geschlechtern stark angestiegen. Seit Anfang der 80er Jahre ist bei Frauen eine Stagnation, bei Männern ein weiterer Anstieg der Inzidenzrate zu beobachten. Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei Männern bei 67 Jahren, bei Frauen bei 72 Jahren.

Sowohl Inzidenzrate, als auch Mortalitätsrate steigen bei beiden Geschlechtern jenseits des 50. Lebensjahres exponentiell an.

Darmkrebs ist mit insgesamt 28987 Sterbefällen bei beiden Geschlechtern (13.658 Männer, 15.329 Frauen) die zweithäufigste tumorbedingte Todesursache (RKI, 2004).

Bezüglich der Mortalitätsraten wurde bis Anfang der 80er Jahre ein Anstieg verzeichnet.

Seit 1980 ist die Mortalitätsrate im Gegensatz zur Inzidenzrate für beide Geschlechter rückläufig (Becker, 2003).

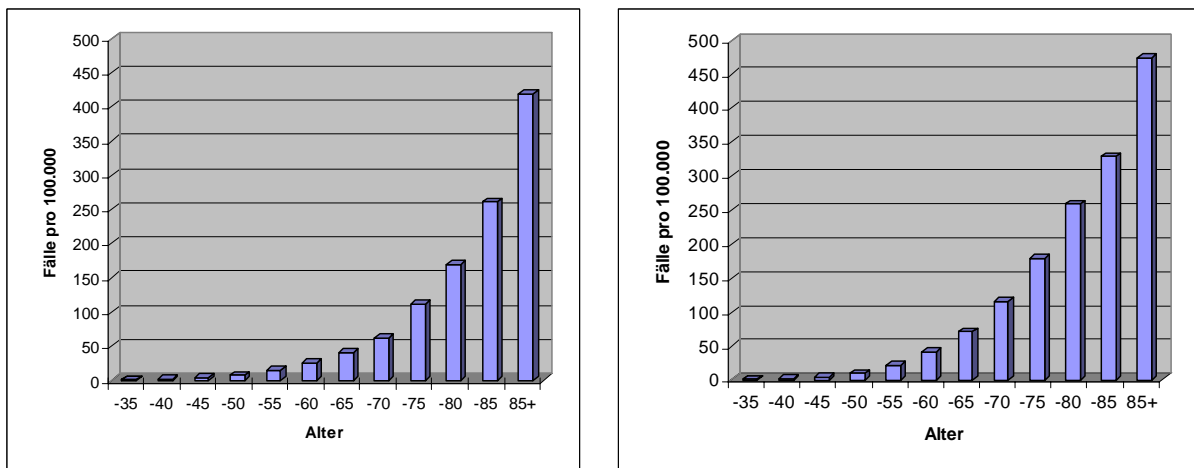


Abbildung 2: Altersspezifische Mortalitätsraten je 100.000 der Bevölkerung 1999. Links: Frauen, Rechts: Männer. Quelle: Robert Koch Institut

1.2 Ätiologie

Ernährung (Becker, 2003)

Die Ätiologie des Dickdarmkarzinoms ist multifaktoriell. Ernährungsfaktoren wie eine reichliche Zufuhr von Fett und tierischem Eiweiß bei insgesamt ballaststoffarmer Kost werden heute allgemein als Risikofaktor angesehen. Laut der großen europäischen EPIC-Studie (Riboli, 1992) führt vor allem ein hoher Konsum von sogenanntem „roten Fleisch“ (Rind, Schwein und Schaf) zu einer Risikoerhöhung. Der Konsum von Fisch, Geflügel und Wild (weißes Fleisch) ist dagegen nicht mit einem erhöhten Risiko behaftet. Dass die Aufnahme von Ballaststoffen mit einem erniedrigten Darmkrebsrisiko einhergeht, hat sich in

mehreren Studien gezeigt. Burkitt und Trowell zählen zu den ersten Autoren, die diesen Zusammenhang aufgrund der niedrigeren Inzidenzrate (im Vergleich zu den westlichen Industrienationen) des kolorektalen Karzinoms und der faserreicheren Kost in Afrika vermuteten (Burkitt, 1975).

Nikotin und Alkohol

Während Alkohol erst in größeren Mengen ein mäßig erhöhtes Risiko darstellt (Franceschi, 1994), konnte in zahlreichen Studien belegt werden, dass für Raucher ein erhöhtes Risiko besteht, an einem kolorektalen Karzinom zu erkranken (Giovannucci, 2001). Laut einer Schätzung sind 12% der kolorektalen Karzinome in den USA auf den Nikotinkonsum zurückzuführen (Chao, 2000).

Körperliche Aktivität und Übergewicht

Übergewicht und geringe körperliche Aktivität wurden als Risikofaktoren beschrieben, jedoch nur für das Kolonkarzinom (Colditz, 1997; Bergstrom, 2001).

Genetische Faktoren (Tumorzentrum, 2001)

Weniger als 10% der Kolonkarzinome sind auf primäre genetische Defekte zurückzuführen. Die familiäre adenomatöse Polyposis (FAP) ist für ungefähr 1% der kolorektalen Karzinome verantwortlich. Ursache dieser Erkrankung ist eine Keimbahn-Mutation des APC-Gens auf dem langen Arm des Chromosoms 5. Die FAP wird autosomal-dominant vererbt, somit in 50% an die nächste Generation weitergegeben. Klinisch ist die Erkrankung durch das Auftreten von 100 und mehr Polypen im gesamten Kolon und Rektum gekennzeichnet. Die Polypen treten typischerweise im Alter von 15 bis 25 Jahren auf. Bis zum 40. Lebensjahr manifestiert sich in annähernd 100 Prozent der Fälle ein Karzinom. Außerhalb des Dickdarms treten Neoplasien vor allem im Bereich des Duodenums und des Magens auf.

Das hereditäre, nicht polypöse Colorectale Carzinom (HNPCC), hat einen Anteil von 5-10% an den kolorektalen Karzinomen und ist die häufigste hereditäre Karzinomkrankung überhaupt. Die molekularbiologische Grundlage dieser Erkrankung ist die Mutation in so genannten mismatch-repair Genen (hMLH1, hMSH2, hPMS1 und hPMS2). Die Aufgabe dieser Gene ist die Identifizierung fehlerhafter Basenpaarungen nach DNA-Replikation und deren Korrektur. Als Folge der Mutation kommt es zur Entstehung so genannter Mikrosatelliteninstabilitäten (MSI) des Genoms. Diese MSI wird nicht nur beim HNPCC-Karzinom gefunden, sondern spielt auch eine Rolle bei der Ätiologie sporadischer Tumoren.

Bezüglich der Chronisch-Entzündlichen Darmkrankheiten weisen Patienten mit Colitis Ulcerosa ein deutlich erhöhtes Karzinomrisiko auf. Das Risiko nimmt bei langjährigen Verläufen vor allem bei der Pancolitis Ulcerosa zu. Lediglich ein leicht erhöhtes Karzinomrisiko haben Patienten mit Morbus Crohn. Zu den gesicherten Präkanzerosen zählen zudem Polypen, insbesondere villöse Adenome.

Adenom-Karzinom-Sequenz (Tumorzentrum, 2001)

Die Karzinomentstehung aus Adenomen wird auch als Adenom-Karzinom-Sequenz bezeichnet. Hierbei wird angenommen, dass die Entwicklung von normalem Gewebe zum Adenom bzw. zur malignen Entartung einer Vielzahl genetischer Veränderungen unterliegt. An diesem Prozess sind sowohl Onkogene (K-ras, c-myc), als auch Tumorsuppressorgene (APC, DCC) beteiligt.

Durch Mutation und /oder Allelverlust kommt es zunächst zum Verlust des APC-Gens. Im Verlauf spielt dann die Aktivierung des Onkogens K-ras und c-myc und der Verlust des p53-Gens und Genen auf dem Chromosom 18q (DMAD4 und SMAD2, DCC) eine Rolle. Der Funktionsverlust von p53 kann meistens erst in Karzinomen nachgewiesen werden. Der Verlust von DCC tritt bereits bei Adenomen mit schweren Epitheldysplasien auf.

Die zeitliche Abfolge ist hierbei nicht entscheidend. Sehr viel wichtiger ist wohl das Zusammentreffen mehrerer Defekte.

1.3 Vorsorge und Klinik

Veränderungen der Stuhlgewohnheiten zählen zu den ersten Symptomen eines kolorektalen Karzinoms. Jede Blutauflagerung, neu auftretende Diarrhoe oder Obstipation sollte berücksichtigt und abgeklärt werden.

Allgemeine Symptome wie Gewichtsverlust und Schwäche werden ebenfalls häufig beobachtet. Vor allem eine Darmblutung gilt als karzinomverdächtig, bis durch weitere Diagnostik ein Tumor ausgeschlossen ist. Differentialdiagnostisch ist die Hämorrhoidalblutung von Bedeutung. In der Regel tritt diese nur gelegentlich auf, während die Tumorblutung meistens kontinuierlich in Erscheinung tritt und oft mit Schleimabsonderungen einhergeht.

Schmerzen, Ileus und Tumoranämie sind häufige Spätsymptome.

Frauen und Männern sollten ab dem 40. Lebensjahr regelmäßig rektal-digital untersucht werden. Bei dieser einfach durchzuführenden Untersuchung können Tumoren bis maximal 10

cm ab der anokutan Linie diagnostiziert werden. Zusätzlich wird als Screeningmethode der Hämokkult durchgeführt. Dieser Test sollte jährlich in drei aufeinander folgenden Stuhlproben erfolgen. Gemessen wird hier die Peroxidaseaktivität des Hämoglobins, die den Nachweis okkulten Bluts möglich macht. Bei einer Spezifität von 93-97% und einer Sensitivität von 65-80% für Karzinome konnte sich dieser Test in der Vorsorge etablieren (Lehnert, 1999). Adenome werden in Abhängigkeit von ihrer Größe mit einer Sensitivität von 18% erfasst. Da sich viele Karzinome aus vorher bestehenden Adenomen (siehe Adenom-Karzinom-Sequenz) entwickeln, ist die endoskopische Entdeckung und Entfernung mittels Polypektomie als wesentlicher Teil der Prophylaxe (Sekundärprophylaxe) zu werten. Nach dem 50. Lebensjahr sollte alle 5 Jahre eine Darmspiegelung durchgeführt werden.

Würde der Empfehlung der WHO, asymptomatische Personen ohne erhöhtes Risiko ab dem 50. Lebensjahr alle 5 Jahre sigmoidoskopisch zu untersuchen, Folge geleistet werden, ließe sich die Sterblichkeit des kolorektalen Karzinoms um mehr als die Hälfte senken (Lehnert, 1999). Allerdings werden die Vorsorgeprogramme nur unzureichend in Anspruch genommen. Nur 40% der Frauen und 18-20% der Männer, denen eine Vorsorgeuntersuchung zusteht, nehmen diese auch wahr. Seit Oktober 2002 steht allen gesetzlich Versicherten ab dem 55. Lebensjahr zusätzlich zur Hämokkultuntersuchung eine hohe Koloskopie als Screeninguntersuchung zur Verfügung (Eickhoff, 2003; Tumorzentrum, 2001).

1.4 Diagnostik des kolorektalen Karzinoms

Koloskopie

Bei klinisch-anamnestischen Tumorverdacht, wird eine Koloskopie durchgeführt. Auffälliges Gewebe wird entnommen und histologisch untersucht. Bei der Koloskopie sollte immer das komplette Kolon untersucht werden, um eventuelle synchrone Zweitkarzinome auszuschließen. Diese treten bei ca. 2-3% der Patienten auf.

Falls eine komplette Koloskopie nicht möglich ist (zum Beispiel bei Stenose), kommt das röntgenologische Doppelkontrastverfahren zum Einsatz

Sonographie

Die Sonographie dient dem Ausschluss von Metastasen der Leber. Wird sonographisch Aszites nachgewiesen, so kann dies Zeichen einer peritonealen Infiltration sein und bedarf weiterer Abklärung.

Röntgen-Thorax

Eine pulmonale Filialisierung wird durch Röntgenaufnahmen in 2 Ebenen untersucht.

CT

Eine Computertomographie sollte bei unklaren Befunden oder dem Verdacht auf Beteiligung von umliegenden Organen durchgeführt werden.

Labor

Aktueller Standard ist die Bestimmung der Tumormarker CEA und CA 19-9. Dies dient nicht primär der Diagnose sondern der postoperativen Verlaufskontrolle. Des Weiteren sollte ein Blutbild, Gerinnungsparameter, Nierenwerte, alkalische Phosphatase, LDH und Transaminasen bestimmt werden (Tumorzentrum, 2001).

1.5 Spezielle Vorsorge und Diagnostik bei Risikopatienten

Bei genetisch disponierten Personen sind spezielle Vorsorgemaßnahmen nötig.

Bei Diagnose oder nicht ausreichendem Ausschluss einer FAP in der genetischen Analyse wird ab dem 10. Lebensjahr eine jährliche Sigmoidoskopie empfohlen.

Zur Früherkennung von HNPCC-Kolonkarzinomen sollte die erste Screeninguntersuchung mit dem 25. Lebensjahr erfolgen. Die Diagnose erfolgt mit Hilfe der so genannten Amsterdam- und Bethesda-Kriterien:

Amsterdam-Kriterien zur Diagnose des HNPCC (Vasen, 1991)

1. mindestens drei Familienmitglieder mit kolorektalem Karzinom
2. mindestens zwei aufeinander folgende Generationen betroffen
3. ein Familienmitglied erstgradig verwandt mit den beiden anderen
4. ein Betroffener zum Zeitpunkt der Diagnose jünger als 50 Jahre
5. Ausschluss einer familiären adenomatösen Polyposis

Punkte 1-5 müssen erfüllt sein

Bethesda-Kriterien zur Diagnose des HNPCC (Rodriguez-Bigas, 1997)

1. Patienten mit Krebserkrankung in Familien, die die Amsterdam-Kriterien erfüllen
2. Patienten mit zwei HNPCC-assoziierten Karzinomen, einschließlich synchroner und metachroner kolorektaler Karzinome oder assoziierter extrakolonischer Karzinome
3. Patienten mit kolorektalem Karzinom und einem erstgradig Verwandten mit kolorektalem oder assoziiertem extrakolonischen Karzinom* und/oder einem kolorektalen Adenom; Diagnose einer kolorektalen Krebserkrankung im Alter < 45

Jahren, Diagnose eines Adenom im Alter < 40 Jahren.

4. Patienten mit kolorektalem Karzinom oder Endometriumkarzinom diagnostiziert im Alter < 45 Jahren.
5. Patienten mit rechtsseitigem Kolonkarzinom mit einem undifferenzierten (solid/ Cribiform) Zelltyp in der Histopathologie diagnostiziert im Alter <45 Jahren**
6. Patienten mit kolorektalem Karzinom vom Siegelring-Typ(>50% Siegelringzellen) diagnostiziert im Alter < 45 Jahren
7. Patienten mit Adenomen diagnostiziert im Alter < 40 Jahren

(Einer der Punkte muss erfüllt sein)

* *Endometrium-, Ovarial-, Magen-, Dünndarm- oder hepatobiliäres Karzinom oder Übergangsepithelkarzinom des Nierenbeckens oder des Uterus.*

** *Solid/cribiform – definiert als schwach differenziertes oder undifferenziertes Karzinom bestehend aus irregulären, soliden Haufen großer eosinophiler Zellen, die kleine drüsenartige Bestandteile aufweisen*

1.6 Histopathologische Aspekte

1.6.1 Lokalisation

Zu den Kolonkarzinomen zählen die in Zökum, Colon ascendens, Colon transversum, Colon descendens und Colon sigmoideum lokalisierten Tumore. Karzinome im Colon sigmoideum und im Zökum kommen mit 42 und 34% Anteil am häufigsten vor.

Ca. 15% bzw. 9% der Tumoren sind im Colon descendens bzw. Colon transversum lokalisiert.

In der Gruppe der kolorektalen Karzinome ist das Rektumkarzinom mit einem Anteil von ca. 50% am häufigsten vertreten.

1.6.2 Histologische Typen und Grading

Bei einem Großteil der kolorektalen Karzinome handelt es sich um Adenokarzinome (85-90%). Bei 5-10% der Tumoren liegt der histologische Typ muzinöses Adenokarzinom vor. Weitere seltene Typen werden unterschieden:

- Siegelringzellkarzinom (1%)
- Adenosquamöses Karzinom
- Kleinzelliges Karzinom

- Undifferenziertes Karzinom
- Karzinoide
- Lymphome
- Maligne und benigne Bindegewebstumoren

Adenokarzinome werden hinsichtlich der Tumordifferenzierung klassifiziert. Entscheidend ist dabei der Anteil der glandulären Differenzierung (Tumorzentrum, 2001).

Tabelle 1: Histopathologisches Grading

GX	Differenzierungsgrad kann nicht bestimmt werden
G1	Gut differenziert
G2	Mäßig differenziert
G3	Schlecht differenziert
G4	Undifferenziert

1.6.3 Tumorklassifikation

Kolorektale Tumoren werden nach der TNM-Klassifikation der Union Internationale Contre Le Cancer (UICC) unterteilt. Dieses System berücksichtigt die Parameter Tumordinfiltrationstiefe (T), Lymphknotenstatus (N) und Fernmetastasierung (M) getrennt und ermöglicht dadurch exaktere Aussagen hinsichtlich des Primärtumors. Das 1932 zum ersten Mal beschriebene System nach Dukes, das lange Zeit Standard beim Staging der kolorektalen Karzinome war, ist heute obsolet (Dukes, 1932) (Lehnert, 1999).

Die TNM-Klassifikation und Stadiengruppierung laut der UICC ist in den folgenden Tabellen dargestellt (UICC, 1997).

Tabelle 2: TNM-Klassifikation (UICC 1997)

T – Primärtumor	
Tx	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumor infiltriert Submukosa
T2	Tumor infiltriert Muscularis propria
T3	Tumor infiltriert die Muscularis propria hindurch in die Subserosa oder in nicht peritonealisiertes perikolisches oder perirektales Gewebe
T4	Tumor infiltriert direkt in andere Organe oder Strukturen und/oder perforiert das viszerale Peritoneum
N - Regionäre Lymphknoten	
Nx	Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	Metastasen in 1 bis 3 regionären Lymphknoten
N2	Metastasen in 4 oder mehr regionären Lymphknoten
M - Fernmetastasen	
Mx	Fernmetastasen können nicht beurteilt werden
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen

Tabelle 3: Stadiengruppierung nach UICC und Dukes

UICC	T	N	M	Dukes
I	1	0	0	A
	2	0	0	
II	3	0	0	B
	4	0	0	
III	1-4	1	0	C
	1-4	2	0	
IV	1-4	1-2	1	D

1.6.4 Metastasierung

Die Ausbreitung des Kolonkarzinoms erfolgt kontinuierlich, lymphogen oder hämatogen.

Lymphabflusswege verlaufen entlang der A.mesenterica sup. (A.Colica dextra A.Colica media) oder A mesenterica inf.(A.Colica sinistra + Aa. sigmoideae). Tumoren im Bereich des

Colon transversum können zu beiden Seiten metastasieren (Riolan-Arkade, Cannon-Böhm-Punkt). Bei Befall der parakolischen Lymphknoten (kontinuierliche Tumorausbreitung), die hier als regionäre Lymphknoten zählen, wird der Tumor als pN1 (1 bis 3 Lymphknoten befallen) oder pN2 (mehr als 4 Lymphknoten befallen) klassifiziert. Die früher verwendete N3-Klassifikation ist in der UICC-Klassifikation von 1997 nicht mehr getrennt berücksichtigt worden.

Paraaortale Lymphknoten gelten bereits als Fernmetastasen und bedeuten eine M1-Kategorie (M1_{LYM}).

Das Kolonkarzinom metastasiert primär in die Leber (Pfortader-Typ) und sekundär in die Lunge. Nach der Häufigkeit folgen Skelettmetastasen und Gehirnmastasen [Abbildung 3].

Das Rektumkarzinom metastasiert hämatogen in die Leber (Pfortadertyp) und in die Lunge (Cava-Typ). Hier spielt die Lokalisation des Tumors eine bedeutende Rolle. Hochsitzende Tumoren drainieren über den Plexus rectalis superior in die Pfortader, während tiefsitzende Tumoren sich über den Plexus rectalis inferior und die Vena cava inferior ausbreiten.

Die lymphogene Ausbreitung des Rektumkarzinoms verläuft über drei Metastasierungswege in Abhängigkeit von der Lokalisation des Tumors. Hochsitzende (8-16 cm von der Anokutanlinie) Karzinome metastasieren in paraaortale Lymphknoten (A.rectalis sup. + A.mesenterica inf.), Tumoren der mittleren Etage (4-8 cm von der Anokutanlinie) betreffen zusätzlich die Beckenwand (A. mesenterica inf. + A. iliaca int.) Tiefsitzende Tumoren metastasieren außerdem in die inguinalen Lymphknoten. Wie beim Kolonkarzinom zählen befallene paraaortale Lymphknoten als Fernmetastasen (M1_{LYM}) (Tumorzentrum, 2001).

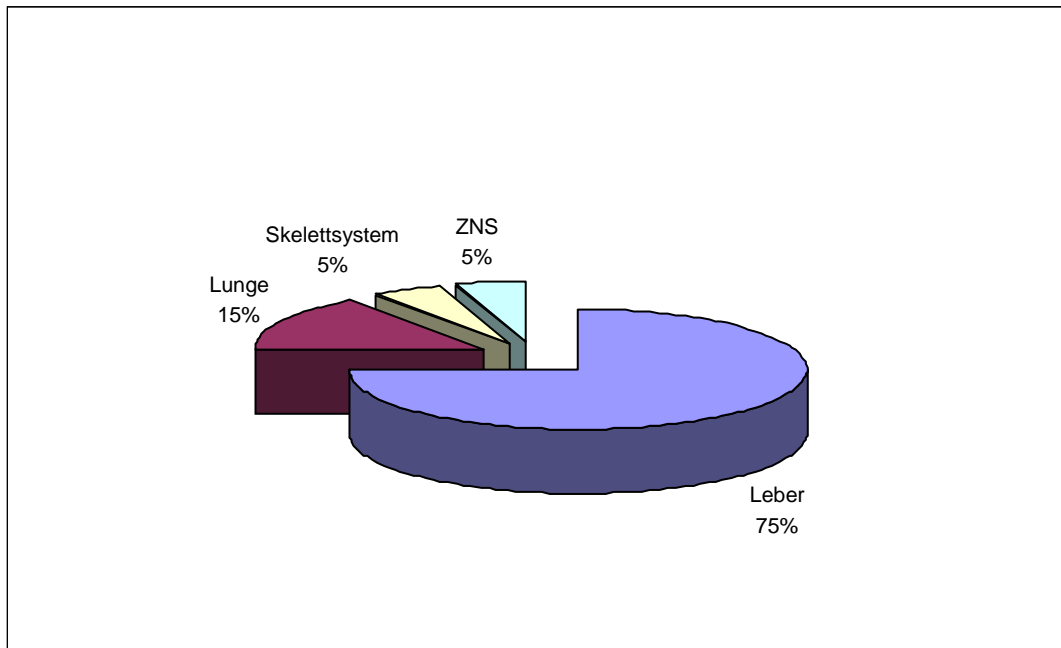


Abbildung 3: Bevorzugte Lokalisation der Metastasierung. Aus: Empfehlungen für eine standardisierte Diagnostik, Therapie und Nachsorge. Tumorzentrum Heidelberg. 1. Auflage 1999

1.6.5 Lokoregionäres Rezidiv

Die Lokalrezidivrate beim Kolonkarzinom liegt in Abhängigkeit vom Tumorstadium zwischen 2 und 19% (Nicum, 2003). Im Vergleich dazu treten bei Rektumkarzinomen deutlich häufiger Lokoregionäre Rezidive auf. Die Rezidivraten liegen hier zwischen 4 und 54% (Nicum, 2003).

Etwa 60% aller lokalen Rezidive kolorektaler Tumoren treten innerhalb der ersten beiden Jahre nach Entfernung des Primärtumors auf (Otto, 1996).

1.7 Therapieverfahren

1.7.1 Kolon

1.7.1.1 Operative Verfahren

Die Operation mit kurativer Zielsetzung beinhaltet die Resektion des tumorbefallenen Areals und das dazugehörige Lymphabflussgebiet. Bei fortgeschrittenen Tumoren müssen gegebenenfalls benachbarte Organe mit entfernt werden, um eine kurative R0-Resektion zu erzielen. Dies wird als multiviszzerale Resektion bezeichnet.

Um eine Entfernung intramuraler mikroskopischer Tumoranteile zu gewährleisten wird eine

Resektionsgrenze von mindestens 2 cm eingehalten.

Wie bei anderen Tumoroperationen hat sich auch beim kolorektalen Karzinom die „no-touch technique“ nach Turnball als Standard etabliert. Die zu- und abführenden Gefäße werden ligiert, das Risiko einer Tumorzellaussaat somit vermindert. Erst dann sollten Manipulationen am befallenen Areal vorgenommen werden.

In Abhängigkeit von der Lokalisation des Tumors kommen unterschiedliche Operationen zum Einsatz.

Zökum- und Aszendenskarzinom

Ist der Tumor im rechten Kolon lokalisiert, wird eine Hemikolektomie rechts mit anschließender Ileotransversostomie vorgenommen. Die Operation schließt die Entfernung des Lymphabflussgebietes der A.colica dextra und der A.ileocolica und der des rechtsseitigen Asts der A.colica media ein. Der Stamm der A.colica media wird geschont. Erst nach erfolgter Dissektion entlang der Stammgefäße wird das Kolon aus dem Retroperitoneum herausgelöst.

Karzinom der rechten Kolonflexur

Ist der Tumor in der rechten Kolonflexur lokalisiert, erfolgt eine erweiterte Hemikolektomie rechts. Grund dafür ist der mögliche Befall (30 %) von Lymphknoten entlang der A. colica media. Zunächst wird die A.colica media abgangsnahe ligiert. Die linke Kolonflexur muss bei nicht ausreichender Kollateralversorgung mit reseziert werden. Das Omentum majus wird zusammen mit dem Kolon entfernt.

Transversumkarzinom

Je nach Lokalisation wird beim Transversumkarzinom eine erweiterte Hemikolektomie mit Entfernung des rechtsseitigen oder linksseitigen Areals durchgeführt. Die A. colica media wird zentral ligiert. Wegen des möglichen Lymphabstroms in beide Richtungen ist unter Umständen eine subtotale Kolektomie mit Ileosigmoideostomie nötig.

Karzinom der linken Kolonflexur

Bei Tumoren die im Bereich der linken Kolonflexur lokalisiert sind wird eine erweiterte Hemikolektomie links durchgeführt. Dabei werden die Lymphabflußgebiete der A. colica media und der A. mesenterica inferior mit entfernt. Als Alternative bietet sich die stammsnahe Ligatur der A. colica sinistra an. Vorteil dieser Methode ist, dass die A. rectalis superior und

die A. mesenterica inferior erhalten werden kann. Das distale Sigma muss nicht entfernt werden, da eine ausreichende Durchblutung besteht. Des Weiteren wird das Lymphgewebe am Stamm der A. mesenterica inferior bis zur Aorta entfernt. Dies hat vor allem diagnostische Gründe. Die Dickdarmkontinuität versucht man mittels einer Transverso-Deszendostomie aufrechtzuerhalten.

Karzinom des Colon descendens und proximalen Sigmas

Standardgemäß erfolgt hier die linksseitige Hemikolektomie. Die A. mesenterica inferior wird am Stamm abgesetzt. Nach Entfernung der linken Kolonflexur wird eine Transversorektostomie durchgeführt, welche eine Durchtrennung der A. colica media aufgrund der zu hohen Spannung oft erforderlich macht.

Karzinom des mittleren und distalen Sigmas

Als Standard hat sich beim Sigmakarzinom die radikale Sigmaresektion etabliert. Die A. mesenterica inferior wird zentral abgesetzt. Die proximale Resektionsgrenze liegt im Bereich des Colon descendens, die distale Resektionsgrenze im oberen Rektumdrittel. Anschließend wird eine Deszendorektostomie durchgeführt. Alternativ wird wie beim Deszendenskarzinom eine Transversorektostomie vorgenommen (Tumorzentrum, 2001).

1.7.1.2 Adjuvante Verfahren

Neoadjuvante Radiochemotherapie

Es liegen keine Untersuchungen vor, die die Wirksamkeit dieser Therapie ausreichend belegen. Sie findet daher in der klinischen Routine keine Anwendung.

Adjuvante Chemotherapie

Bezüglich der Indikation für eine adjuvante Radiochemotherapie wurden mehrere große Studien durchgeführt. Moertel et al untersuchten 1990 die Auswirkungen der adjuvanten Chemotherapie auf die Rezidivrate und die Überlebenszeit bei 1296 Patienten mit Kolonkarzinom im Stadium II und III. Lediglich die Patienten mit einem Tumor im Stadium III konnten von einer adjuvanten Therapie profitieren (Senkung der Mortalität um 16%) (Moertel, 1990). Die 1995 veröffentlichte IMPACT-Studie belegte dies ebenfalls. Hier zeigte sich eine Senkung der Mortalität um 22% (Marsoni, 1995).

Auf Grundlage dieser Studien wird standardgemäß eine adjuvante Chemotherapie im Stadium III durchgeführt. Verwendete Pharmaka sind 5-FU und Folinsäure. Das früher verwendete

Levamisol ist aufgrund seiner schlechten Verträglichkeit und hohen Toxizität durch Folinsäure ersetzt worden.

Strahlentherapie

Anders als das Rektumkarzinom stellt das Kolonkarzinom selten eine Indikation für eine zusätzliche Radiotherapie dar. Um Rezidiven vorzubeugen wird bei manchen T4-Stadien eine Strahlentherapie durchgeführt.

1.7.2 Rektum

1.7.2.1 Operative Verfahren

Vor der Durchführung der Operation wird im Regelfall eine orthograde Darmspülung mit 3-5 Liter einer osmotisch inaktiven Lösung durchgeführt. Als Antibiotikaprophylaxe hat sich die einmalige Gabe eines Cephalosporins und Metronidazol bewährt, welches bei der Einleitung der Narkose verabreicht wird.

Bei der Operation des Rektumkarzinoms haben sich verschiedene Techniken etabliert. Dazu zählen die anteriore Rektumresektion, die abdomino-perineale Rektumexstirpation und die intersphinktere Rektumresektion.

Ist das Karzinom im oralen oder mittleren Rektumdrittel lokalisiert, wird eine kontinenzerhaltende anteriore oder tiefe anteriore Rektumresektion durchgeführt. Das Mesorektum wird mit entfernt. Konnte ein Sicherheitsabstand von mindestens 5 cm eingehalten werden, so besteht die Möglichkeit, das Mesorektum in Höhe der Resektionsgrenze quer zu durchtrennen.

Die A. mesenterica inferior wird distal des Abgangs der A. colica sinistra ligiert. Die autonomen Nerven Plexus hypogastricus und Plexus pudendus sollen nach Möglichkeit geschont werden.

Rektumkarzinome die im unteren Drittel lokalisiert sind, werden in Abhängigkeit von ihrem Staging unterschiedlich therapiert. So genannte „Low risk“-Karzinome (uT1, uN0, G1-2; Das Präfix „u“ bedeutet, dass der Befund bzw. das Staging endosonographisch erfolgt ist) können lokal exzidiert werden (Vollwandexzision). Die Exzision muss im Gesunden erfolgen. Tumoren die präoperativ als T2 oder T3 Stadium eingestuft werden, können durch eine tiefe anteriore Resektion mit einem Sicherheitsabstand von 2 cm oder wahlweise eine Analanastomose entfernt werden. Dies trifft auch für „High risk“-Karzinome zu. uT4-Tumoren werden mittels der abdomino-perinealen Rektumexstirpation entfernt. Wie beim Karzinom der oberen beiden Drittel sollte auch im unteren Drittel das Mesorektum bis zur

Puborektalschlinge komplett entfernt werden (Total Mesorectal Excision – TME), um ein niedrigeres Rezidivrisiko zu erreichen.

1.7.2.2 Adjuvante Verfahren

Neoadjuvante Radiochemotherapie

Diese Therapie hat sich lediglich beim Rektumkarzinom durchsetzen können. Laut aktuellen Empfehlungen soll sie bei kurativ resezierbaren Karzinomen mit Lymphknotenbefall (N+) und bei großen Karzinomen mit (T4) oder ohne Befall (T3) benachbarter Organe zum Einsatz kommen. Ziel ist es, ein so genanntes „Downsizing“ bzw. „Downstaging“ zu erreichen, um eine R0-Resektion zu ermöglichen und kontinenserhaltend operieren zu können.

Adjuvante Radiochemotherapie

Aktueller Standard ist der Einsatz der kombinierten Radiochemotherapie bei positivem Lymphknotenstatus sowie T3/T4-Tumoren.

Adjuvante Strahlentherapie

Die adjuvante Strahlentherapie war früher der Standard bei fortgeschrittenen Rektumkarzinomen (T4). Sie ist im Laufe der letzten Jahre durch die adjuvante Radiochemotherapie ersetzt worden. Bei einer Unverträglichkeit des Chemotherapeutikums oder internistischen Gegebenheiten, die eine Chemotherapie nicht möglich machen, kommt die alleinige Radiotherapie weiterhin zum Einsatz. Der Haupteffekt liegt in der Senkung der Lokalrezidivrate. In einer Studie der Medical Research Council Rectal Cancer Working Party wurde an 469 Patienten untersucht, ob die postoperative Radiotherapie einen Vorteil gegenüber der alleinigen chirurgischen Therapie bringt. Es konnte zwar gezeigt werden, dass die postoperative Radiatio günstigen Einfluss auf die Lokalrezidivrate hatte. Allerdings wurden keine Unterschiede hinsichtlich Fernmetastasierung sowie Überleben in den beiden Gruppen mit bzw. ohne Radiotherapie festgestellt (1996).

Adjuvante Chemotherapie

Kurativ resezierte T3- und T4-Rektumkarzinome mit oder ohne positiven Lymphknotenstatus stellen dann eine Indikation für eine adjuvante Chemotherapie dar, wenn nicht bereits eine neoadjuvante Therapie durchgeführt wurde.

Die eben erwähnte niedrigere Rezidivrate macht allerdings den Einsatz einer kombinierten Radiochemotherapie sinnvoll.

1.7.3 Therapie bei Metastasierung

Wird im postoperativen Verlauf eine Fernmetastasierung festgestellt, besteht bei einem Teil der Patienten die Möglichkeit einer Metastasenresektion. Voraussetzung hierfür ist ein kurativ resezierter Primärtumor und der Nachweis einer solitären Metastase, die entweder in der Leber oder in der Lunge lokalisiert ist.

Durch die Etablierung und Standardisierung der Leberteilresektion hat sich die Prognose dieser Patienten mit 5-Jahres-Überlebensraten von ca. 20-50% verbessert.

Solitäre Metastasen der Lunge sollten bei jüngeren (<70 Jahre) Patienten mit gutem Allgemeinzustand mittels einer atypischen Lungenresektion entfernt werden.

Palliative Therapie

Bei Fernmetastasen oder Lokalrezidiven, die operativ nicht mehr entfernt werden können, kommen verschiedene Palliativmaßnahmen zum Einsatz. Die chirurgische Therapie beschränkt sich auf die Entfernung von Stenosen und die Anlage eines Stomas. Mehr Bedeutung kommt in der Palliativmedizin der Chemotherapie zu. Die Grundlage der meisten Therapieschemata ist die Kombination aus Folinsäure und 5-FU (FU/FA). Aufgrund der geringeren Nebenwirkungen und der höheren Remissionsraten werden immer häufiger 5-FU-Dauerinfusionen (AIO-Protokoll, Ardan-Protokoll) anstelle von 5-FU-Bolusgaben (Poon, Machover, Münchener Protokoll) verabreicht.

Regionale Therapie

Liegt eine isolierte inoperable Lebermetastasierung vor, so besteht die Möglichkeit der Zytostatikaapplikation direkt in die A.hepatica. Diese Therapie zeigte eine höhere Remissionsrate und eine Verlängerung der Überlebenszeit, ist aber häufig mit Komplikationen verbunden (Heslin, 2001). Aufgrund dieser technischen Probleme konnten sich Port/Kathetersysteme nicht als Standard etablieren. Sie werden aber trotzdem in bestimmten Zentren und bei strenger Indikationsstellung durchgeführt (Tumorzentrum, 2001).

1.8 Nachsorge

Ziel der Nachsorge ist es frühzeitig Lokalrezidive, Metastasen und Zweitkarzinome zu erkennen. Außerdem dient sie der psychologischen Unterstützung des Patienten. Wie bereits erwähnt, haben vor allem Rektumkarzinome ein erhöhtes Rezidivrisiko. Insgesamt erleiden etwa 50% aller Patienten die sich einer kurativer Operation eines kolorektalen Karzinoms

unterzogen haben in den ersten 2 bis 3 Jahren ein Lokalrezidiv oder Fernmetastasen (Berman, 2000).

Dieser Sachverhalt veranschaulicht, wie wichtig eine konsequente Nachsorge ist. Regelmäßige Untersuchung sind sinnvoll nach R0-Operationen von fortgeschrittenen Tumoren (Stadium II und III). Bei Patienten mit HNPCC sollte die Nachsorge lebenslang erfolgen.

Patienten mit Stadium I-Tumoren profitieren am wenigsten von einer Nachsorge. Ihre sehr gute Prognose (5-Jahres-Überlebensrate von 85%) lässt sich kaum verbessern. Die Nachsorgeempfehlungen sind in den folgenden Tabellen dargestellt (Tumorzentrum, 2001).

Tabelle 4: Nachsorgeempfehlungen nach Kolonkarzinom UICC Stadium I. Aus Dt. Ärzteblatt 96, 33 (1999)

Untersuchung	Monate						
	6	12	18	24	36	48	60
Anamnese, körperliche Untersuchung	+ ^b			+			+
Koloskopie ^a	+ ^b			+			+
^a Drei Monate postoperativ, wenn präoperativ Abklärung des gesamten Kolons nicht möglich. Nach dem fünften Jahr alle drei Jahre Koloskopie. ^b Nach endoskopischer Abtragung.							

Tabelle 5: Nachsorgeempfehlungen nach Kolonkarzinom UICC Stadium II+III.

Aus Dt. Ärzteblatt 96, 33 (1999)

Untersuchung	Monate						
	6	12	18	24	36	48	60
Anamnese, körperliche Untersuchung	+	+	+	+	+	+	+
CEA	+	+	+	+	+	+	+
Abdomensonographie	+	+	+	+	+	+	+
Röntgenthorax (in zwei Ebenen)		+		+	+		+
Koloskopie ^a				+			+
^a Drei Monate postoperativ, wenn präoperativ Abklärung des gesamten Kolons nicht möglich. Nach dem fünften Jahr alle drei Jahre Koloskopie. HNPCC: ohne subtotale Kolektomie: zweijährlich Koloskopie, wenn kein Adenomnachweis in der Vorsorgeuntersuchung; nach subtotaler Kolektomie: alle zwei Jahre Rektoskopie. Spiral-Computertomographie Abdomen befundorientiert (zum Beispiel bei unklarem Sonographiebefund, CEA-Anstieg).							

Tabelle 6: Nachsorgeempfehlungen bei Patienten mit Rektumkarzinom Stadium II + III

Untersuchung	Monate						
	6	12	18	24	36	48	60
Anamnese, körperliche Untersuchung, CEA	+	+	+	+	+	+	+
Abdomensonographie	+	+	+	+	+	+	+
Röntgenthorax (in zwei Ebenen)		+		+	+		+
Nach Rektumresektion: Rektoskopie o.	+	+	+		+	+	
Sigmoidoskopie, evtl. Endosonographie							
Koloskopie ^b							
Spiral-Computertomographie Becken	Drei Monate nach Abschluss der tumorspezifischen Therapie (Operation bzw. adjuvante Strahlen-/Chemotherapie)						
^a Nach adjuvanter Strahlen-/Chemotherapie wegen verzögert auftretender Lokalrezidive. ^b Drei Monate postoperativ, wenn präoperativ Abklärung des gesamten Kolons nicht möglich. Nach dem fünften Jahr alle drei Jahre Koloskopie. Tumoren, die nicht eindeutig dem Rektum oder Sigma zuzuordnen sind (so genannte Rektosigmoidkarzinome), werden in der Tumornachsorge wie Rektumkarzinome behandelt.							

1.9 Prognose

McLeod definiert einen Prognosefaktor als eine Variable, die Informationen über das Überleben gibt, die Erkenntnisse der histopathologischen Untersuchung ergänzt und der Therapieplanung dient (McLeod, 1999). Das Staging nach der UICC-Klassifikation ist weit verbreitet und stellt die Referenz für die Beurteilung neuer Prognosefaktoren dar.

Um als klinisch relevant eingestuft werden zu können, müsste ein neuer Prognosefaktor laut Duffy verschiedene Anforderungen erfüllen (Duffy, 2001):

- 1) Er muss unabhängig von Staging-Systemen sein,
- 2) ein stärkerer Indikator für ein schlechteres Überleben darstellen und / oder
- 3) zusätzliche prognostische Informationen zu den Untergruppen der Staging-Systeme liefern

Die Berücksichtigung der klinischen Relevanz eines neuen Prognosefaktors wird von verschiedenen Autoren immer wieder betont. 1995 hat das College of American Pathologists eine Unterteilung der Prognosefaktoren in 3 Kategorien vorgeschlagen (Henson, 1995). Diese wurde vom American Joint Committee on Cancer (AJCC) modifiziert und erweitert (Compton, 2000) und sind in der folgenden Tabelle dargestellt:

Tabelle 7: Kategorien von Prognosefaktoren nach (Compton, 2000)

Kategorie I	Durch Literatur gut untermauerte Faktoren, die in der Patientenbehandlung allgemein berücksichtigt werden
Kategorie II	Biologisch und/oder klinisch ausgiebig untersuchte Faktoren: A: in klinischen Studien getestet B: biologische und Korrelationsstudien durchgeführt, nur wenige klinische Outcome-Studien
Kategorie III	Derzeit weder Kriterien für Kategorie I noch für Kategorie II zutreffend
Kategorie IV	Faktoren, die gut untersucht wurden, aber keine prognostische Aussagekraft haben

Prognosefaktoren beim kolorektalen Karzinom

Die Prognose des kolorektalen Karzinoms wird maßgeblich von der Tumorausbreitung hinsichtlich Infiltrationstiefe, Lymphknotenbefall und Fernmetastasierung beeinflusst.

Die TNM-Klassifikation der UICC berücksichtigt diese Faktoren separat und ermöglicht somit neben der besseren Therapieplanung eine genauere Prognoseabschätzung, als dies bei der Tumorklassifizierung nach Dukes möglich war (Northover, 1997).

Die 5-Jahres Überlebensraten in Abhängigkeit der Stadiengruppierungen der UICC sind in Tabelle 8 dargestellt.

Tabelle 8: 5-Jahres Überlebensraten in Abhängigkeit des Stadiums (Giovannucci, 2001)

UICC	TNM classification	5-Year survival (%)
I	pT1N0M0	>90
	pT2N0M0	>90
II	pT3N0M0	70
	pT4N0M0	30
III	pT _{any} N+M0	30-50
IV	pT _{any} N _{any} M+	<5

Neben diesen Faktoren hat sich die Residualtumor- oder R-Klassifikation aufgrund hoher und unabhängiger prognostischer Aussagekraft als Prognosefaktor beim kolorektalen Karzinom etabliert und wurde von der AJCC der Kategorie I zugeordnet. Die 5-Jahres Überlebensrate

nach einer R0-Resektion liegt bei über 70%. Betrachtet man dagegen das Überleben der Patienten, nach einer R1- beziehungsweise R2-Resektion, so liegt dieses bei unter 10% (Lehnert, 1999). In diesem Zusammenhang kommt auch der Erfahrung des Operateurs und des operativen Verfahrens prognostische Bedeutung zu (Hermanek, 1995; Baldus, 2003).

Als weitere histopathologische Prognosefaktoren sind in diesem Zusammenhang die Tumordinvasion in Blut- oder Lymphgefäße zu nennen. Mehrere Autoren haben diese Faktoren als prognostisch wichtig deklariert (Chapuis, 1985; Michelassi, 1991), dennoch wird eine Routinebestimmung von der AJCC bislang nicht empfohlen. Gründe dafür liegen in den hohen Kosten, dem technischen Aufwand und der schwierigen Interpretation (Interobserver Variability) dieser Methode (Compton, 2003).

Die Beurteilung der Tumordifferenzierung war in mehreren Studien ein unabhängiger Prognosefaktor (Chapuis, 1985; Newland, 1994). Da es weltweit keine einheitliche Klassifikation gibt, empfiehlt das College of American Pathologists, das häufig verwendete 4-Stufen Gradingssystem auf 2 Stufen zu reduzieren (gut und schlecht differenziert). Hierdurch ließe sich die Variabilität zwischen den Gradingssystemen verringern und die prognostische Aussagekraft verbessern.

Der histologische Typ des kolorektalen Karzinoms hat nur eine geringe prognostische Relevanz. Das kleinzellige Karzinom und das Siegelringkarzinom sind seltene Unterformen, die beide eine ungünstige Prognose haben. Die AJCC empfiehlt, diese Tumoren als schlecht differenzierte Tumoren (G3+4) zu betrachten.

Eine Vielzahl von molekularen Prognoseparametern ist in den letzten Jahren hinsichtlich prognostischer Aussagekraft beim kolorektalen Karzinom analysiert worden.

Eine Auswahl ist in der folgenden Liste dargestellt (Compton):

LOH 18q/DCC, LOH p53/17p, MSI-H, P21, P27, LOH 8p, LOH 1p, LOH 5q, Ki-ras, c-myc, bcl-2, BAX, sialo-Tn antigen, Nm23-Gen, Thymidilatsynthase, Thymidinphosphatase

Von diesen molekularen Prognosemarkern zeigten LOH 18q/DCC, MSI-H und Thymidilatsynthase in verschiedenen Studien unabhängige prognostische Relevanz (Compton).

Neben diesen eben genannten Parametern wurden zahlreiche Tumormarker hinsichtlich der prognostischen Wertigkeit analysiert.

Bei Tumormarkern handelt es sich meistens um Proteine mit einem Lipid- oder Kohlenhydratanteil. Diese im Blut und anderen Körperflüssigkeiten zirkulierenden Makromoleküle können in Abhängigkeit von bösartigen Erkrankungen, bezüglich deren Entstehung und Wachstum in unterschiedlicher Konzentration gemessen werden. Tumormarker werden entweder direkt von der Tumorzelle oder indirekt durch die Induktion anderer Zellen produziert.

Seit der Identifizierung des Carcinoembryonalen Antigens als Tumormarker verschiedener gastrointestinaler Tumorerkrankungen durch Gold and Freedman wurde in zahlreichen Diskussionen die Bedeutung dieses Parameters hinsichtlich Screening, Diagnose, Nachsorge und Prognose erläutert (Gold, 1965). Das mittlerweile als Standardnachsorgeparameter beim kolorektalen Karzinom etablierte CEA zeigte in mehreren multivariaten Studien prognostische Wertigkeit.

1.10 Tumormarker beim Kolorektalen Karzinom

CEA (Fateh-Moghadam, 1993; Stieber, 2001; Tumorzentrum, 2001)

Das Carcinoembryonale Antigen (CEA) gehört wie das Alpha-Fetoprotein zur Gruppe der carcino-fetalen Antigene. Während der Embryonal- und Fetalzeit werden diese Antigene physiologischerweise produziert. Postnatal wird ihre Bildung reprimiert, und so kann das CEA beim gesunden Erwachsenen kaum nachgewiesen werden. Bestimmte Tumoren heben diese Supprimierung auf und führen zu einem Konzentrationsanstieg. CEA ist ein Glykoprotein mit einem Kohlenhydratanteil von 45-60%. Es gehört zur Familie der Immunglobuline und besitzt ein Molekulargewicht von etwa 180.000 Dalton (Hammarstrom, 1999). Es existiert eine Gruppe von mindestens 14 Genen, die für CEA und CEA-ähnliche Antigene (nonspecific cross reacting antigen NCA 1 und 2, Biliäres Glykoprotein BGP) kodieren (CEA-Familie).

Rauchen, Alkohol und die oben genannten heterophilen Antikörper (HAMA) beeinflussen die Messwerte (Primus, 1988). Leichte bis mäßige CEA-Erhöhen werden auch regelmäßig bei bestimmten benignen Erkrankungen festgestellt, wie zum Beispiel: Colitis ulcerosa, M.Crohn, Pankreatitis, Hepatitis, Pneumonie, Bronchitis, TBC, Emphysem und Mukoviszidose. Im Vergleich dazu kommt es bei verschiedenen bösartigen Tumoren (kolorektales Karzinom, Mamma-, Bronchial-, Magenkarzinom) zu einer deutlich erhöhten CEA-Freisetzung im Blut.

Das 1965 von Gold und Freedman erstmals beschriebene CEA, ist das am häufigsten evaluierte tumorassoziierte Antigen beim kolorektalen Karzinom (Gold, 1965) und stellt nach wie vor den Marker der ersten Wahl dar. CEA stellt derzeit den einzigen Tumormarker dar, der in die Tumornachsorge des kolorektalen Karzinoms integriert wurde. Neben der Tatsache, dass die Bestimmung dieses Parameters kostengünstiger als radiologische Verfahren ist (Graham, 1998), konnte eine sehr hohe Sensitivität für die Erkennung von im Verlauf neu aufgetretenen Lebermetastasen gezeigt werden (Moertel, 1993).

Mittels der postoperativen CEA-Bestimmung wurden bei einer Spezifität von ca. 70%, 80% der Rezidive (Lokalrezidive und Metastasen) bei einer durchschnittlichen „lead time“ von 5 Monaten entdeckt (Duffy, 2001). Pietra et al. zeigte, dass bei klinisch asymptomatischen Patienten CEA derjenige Parameter war, der am Häufigsten ein Rezidiv angezeigt hatte (Pietra, 1998).

Hinsichtlich Primärdiagnose und Screening des kolorektalen Karzinoms ist die Wertigkeit des CEA durch zu niedrige Sensitivitätsraten stark limitiert. Bezüglich der Berücksichtigung der präoperativen CEA-Konzentration bei Staging und Prognose des kolorektalen Karzinoms gab es in den letzten Jahren interessante Neuerungen in den Protokollen der AJCC und der CAP.

Die Höhe der CEA-Freisetzung zum Zeitpunkt der Primärtherapie steht in ausgeprägter Korrelation zum Tumorstadium (Hasholzner, 1999) und sollte laut den Empfehlungen der AJCC in der TNM-Klassifikation berücksichtigt werden (Compton, 2000).

Die vorgeschlagene C-Klassifikation berücksichtigt präoperative CEA-Werte wie folgt:

- CX: CEA nicht bestimmt
- C0: CEA nicht erhöht (<5 ng/ml)
- C1: CEA erhöht (>5 ng/ml)

Basierend auf den Ergebnissen mehrerer multivariater Studien wurde das CEA von einem Expertenausschuss amerikanischer Pathologen als Prognosemarker der höchsten Kategorie I eingestuft (Henson, 1995). In den aktuellen Leitlinien der EGTM wird die Bestimmung präoperativer CEA-Konzentrationen sowohl für die Tumornachsorge als auch für die Prognoseabschätzung beim kolorektalen Karzinom empfohlen (Duffy, 2003).

Neben dem CEA wurden in den letzten Jahren verschiedene andere Tumormarker beim kolorektalen Karzinom identifiziert und hinsichtlich der Bedeutung in der Nachsorge sowie

diagnostischer und prognostischer Wertigkeit evaluiert.

CA 19-9 (Fateh-Moghadam, 1993; Stieber, 2001; Tumorzentrum, 2001)

Beim Cancer Antigen 19-9 handelt es sich um ein hochmolekulares Mucin (Molekulargewicht ca. 10000 Dalton), das immunhistologisch vor allem in Tumorzellen von Magen-, Pankreas- und Kolonkarzinomen nachgewiesen werden konnte.

CA 19-9 ist ein Hapten der Lewis-a-Blutgruppenderminante (Sialyl-Lacto-N-Fucopentaose II, sialysiertes Lewis-a). Bei einem kleinen Teil der Bevölkerung (ca. 7%) liegt die Blutgruppenkonstellation Lewis a/b-negativ vor, wodurch sialysiertes Lewis-a nicht exprimiert werden kann.

Innerhalb der Gruppe der bösartigen Tumore, hat die CA 19-9-Bestimmung einen großen Stellenwert für die Verlaufskontrolle duktaler Pankreaskarzinome und hepatobiliärer Karzinome. In der Nachsorge des kolorektalen Karzinoms stellt CA 19-9 den Tumormarker der zweiten Wahl dar. Hinsichtlich der Sensitivität und Spezifität ist CA 19-9 dem CEA unterlegen (Filella, 1994) und auch die Untersuchung der kombinierten Bestimmung beider Tumormarker ergab keine Vorteile gegenüber der isolierten CEA-Bestimmung. Wird bei einem Patienten CEA nicht im Blut freigesetzt, so kann auch CA 19-9 als Tumormarker in Betracht gezogen werden.

Im Vergleich zur Tumornachsorge ist CA 19-9 für die Prognoseabschätzung kolorektaler Karzinome von größerer Bedeutung. In mehreren Studien hatte dieser Tumormarker einen vom Tumorstadium unabhängigen und signifikanten Einfluss auf das rezidivfreie Intervall und das Überleben (Diez, 1994; Behbehani, 2000; Reiter, 2000; Nakagoe, 2001; Nakagoe, 2003).

Laut den aktuellen Leitlinien der EGTM hat CA 19-9 nur geringe Bedeutung in der Nachsorge des kolorektalen Karzinoms, es wurde jedoch auf die hohe prognostische Relevanz dieses Tumormarkers hingewiesen. Eine Bestätigung dessen steht noch aus (Duffy, 2003).

CA 242 (Fateh-Moghadam, 1993; Stieber, 2001; Tumorzentrum, 2001)

Das Cancer Antigen CA 242 ist ein sialysiertes Epitop, dass auf muzinösen, hochmolekularen Glykoproteinen exprimiert wird. Es wird auf demselben Makromolekularkomplex exprimiert wie das CA 50 und das CA 19-9, unterscheidet sich jedoch hinsichtlich der chemischen Struktur (Haglund, 1989). Die Herstellung des C242- und des C50-Antikörpers beruht auf derselben Immunisationsprozedur.

Erhöhte CA 242-Konzentrationen wurden bei verschiedenen benignen und malignen

gastrointestinalen Erkrankungen gemessen. Wie auch das CA 19-9 wird CA 242 am häufigsten bei Pankreas- und hepatobiliären Karzinomen, aber auch bei kolorektalen Karzinomen vermehrt freigesetzt (Kuusela, 1991).

CA 242 ist aufgrund der niedrigeren Sensitivität und Spezifität weniger für die Nachsorge geeignet als das CEA (Hasholzner, 1999).

Bei der kombinierten CA 242 und CEA-Bestimmung ist die Sensitivität bezüglich einer Rezidivierung geringfügig höher, als bei alleiniger CEA-Bestimmung (Hall, 1994).

Laut neueren Untersuchungen ist CA 242 dem CEA hinsichtlich prognostischer Relevanz beim kolorektalen Karzinom überlegen (Carpelan-Holmstrom, 1996).

Eine Bestätigung dieser Ergebnisse bei kurativ-resezierten kolorektalen Karzinomen steht derzeit noch aus.

CA 72-4 (Fateh-Moghadam, 1993; Stieber, 2001; Tumorzentrum, 2001)

Das CA 72-4 Antigen ist ein Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von ca. 400.000 Dalton. Es wird mit Hilfe von zwei monoklonalen Antikörpern, dem CC-49 und dem B72-3 erkannt. Neben dem Kolonkarzinom, konnte CA 72-4 bei einer Vielzahl maligner Tumoren (Kolon-, Magen-, Pankreas-, Ovarial-, Mamma-, Endometrium-, Bronchialkarzinom) nachgewiesen werden.

Die prognostische Aussagekraft des CA 72-4 wurde von verschiedenen Autoren untersucht. Während in der Studie von Lindmark et al. für CA 72-4 nur univariat Signifikanz erreicht wurde, zeigte sich bei Louhimo et al eine stadien-unabhängige prognostische Relevanz. (Lindmark, 1996; Louhimo, 2002).

CYFRA 21-1(Fateh-Moghadam, 1993; Stieber, 2001)

Seit 1992 ist ein Tumormarkertest erhältlich, der mit Hilfe monoklonaler Antikörper (Ks 19.1 und BM 19.21) ein Fragment des Cytokeratin 19 misst. Dieses Fragment besitzt ein Molekulargewicht von 30.000 Dalton. Cytokeratine gehören wie auch Desmin und Vimentin zu den Intermediärfilamenten, die zur histopathologischen Detektion pathologisch-veränderter Gewebe untersucht werden. Die Fragmente der Cytokeratine sind im Unterschied zu den Cytokeratinen serumlöslich. Hauptindikation für die CYFRA 21-1-Bestimmung ist das Plattenepithel- und das nicht-kleinzellige Bronchialkarzinom. Des Weiteren liefert dieser Tumormarker wichtige prognostische Informationen für die Verlaufsbestimmung muskelinvasiver Blasenkarzinome, sowie Tumoren im HNO-Bereich.

Bei Patienten mit kolorektalen Karzinomen zeigte sich eine erhöhte Freisetzung von CYFRA 21-1 (Stieber, 1993), es liegen aber noch keine Studien vor, in denen die prognostischen Aussagekraft dieses Tumormarkers evaluiert wurde.

hCG β (Fateh-Moghadam, 1993; Stieber, 2001)

Das Choriongonadotropin ist ein physiologisches Produkt der Synzytiotrophoblasten der Plazenta. HCG ist ein Glykoprotein-Hormon mit einem Molekulargewicht von 46.000 Dalton. Es besteht aus zwei Untereinheiten (hCG α und hCG β), die nicht kovalent miteinander verbunden sind. Die Indikation für die hCG-Wert-Bestimmung ist zum einen der Nachweis und die Kontrolle einer Schwangerschaft, zum anderen dient sie der Verlaufskontrolle bestimmter Tumoren. Hierzu gehören vor allem die Keimzelltumoren des Ovars und des Hodens. Eine erhöhte Sekretion konnte jedoch auch in nicht-trophoblastischen Tumoren festgestellt werden. Beim kolorektalen Karzinom wird von einem erhöhten hCG-Spiegel in 2-41% der Fälle berichtet (Lundin, 2001).

Es liegen Studien vor, in denen hCG β ein unabhängiger Prognosefaktor für das Überleben bei Patienten mit fortgeschrittenen kolorektalen Karzinomen war (Webb, 1995; Louhimo, 2002). Unklar ist jedoch, ob hCG β auch Einfluss auf die Prognose nicht-metastasierter kolorektaler Karzinome hat.

S100

Zur S100-Familie zählen verschiedene niedermolekulare Proteine, die sich durch eine hohe Affinität zum Kalzium charakterisieren lassen. Diese S100-Proteine besitzen unterschiedliche intra- und extrazelluläre Funktionen, zu denen z.B. die Zellproliferation, Signaltransduktion, Zelladhäsion und Motilität zählt (Donato, 2001; Donato, 2003; Flatmark, 2003).

In den letzten Jahren konnte aber auch belegt werden, dass S100-Proteine eine Rolle in der Tumormetastasierung und in der Infiltrierung spielen.

In verschiedenen klinischen Studien zeigte sich eine Korrelation zwischen der Expression von S100 und einer schlechteren Prognose bei Brustkrebs, nicht-kleinzelligem Lungenkrebs, Ösophaguskarzinom (squamös), Magenkarzinom und Blasenkarzinom (Rudland, 2000) (Kimura, 2000; Yonemura, 2000; Ninomiya, 2001; Davies, 2002). Beim kolorektalen Karzinom wurde eine im Vergleich zu normalen Darmgewebe höhere S100-Expression festgestellt (Taylor, 2002). Außerdem korrelierte die S100-Expression mit dem Tumorstadium (Takenaga, 1997; Gongoll, 2002).

Während die prognostische Relevanz der S100-Expression beim kolorektalen Karzinom

mittlerweile belegt ist (Gongoll, 2002), liegen noch keine Studien bezüglich der prognostischen Aussagekraft präoperativer S100-Serumkonzentrationen vor.

HGF (HGF Produktbeschreibung)

Beim Hepatocyte growth factor (HGF) handelt es sich um ein heterodimeres Glykoprotein, dass von mesenchymalen Stromazellen sezerniert wird. Als multifunktionaler Wachstumsfaktor beeinflusst HGF die Proliferation, Migration und Morphogenese von Epithelzellen.

Die Vorstufe von HGF besteht aus einem Pre-Pro-Peptid (728 Aminosäuren), einer Signalsequenz (29 Aminosäuren) und einer Prosequenz (25 Aminosäuren). Die Aktivierung einer bestimmten Serinprotease führt zur extrazellulären Abspaltung einer Arginin-Valin Verbindung von der Prosequenz und damit zur Bildung von aktiviertem HGF.

Das aktivierte HGF besteht aus einer α -Kette (440 Aminosäuren, Molekulargewicht 50.800 Dalton) und einer β -Kette (234 Aminosäuren, Molekulargewicht 34.000 Dalton).

Für die biologische Funktionalität des HGF ist der membran-gebundene C-met Rezeptor von großer Bedeutung. Der C-Met Rezeptor ist ein Tyrosinkinase-Rezeptor, der nach Bindung mit HGF verschiedene Signalkaskaden aktiviert.

Erhöhte HGF-Konzentrationen im Serum wurden bei Patienten mit unterschiedlichen Karzinomen, wie zum Beispiel dem Pankreas- und dem Magenkarzinom, gemessen. Fukuura et al zeigte 1998, dass auch die HGF-Serumkonzentrationen bei Patienten mit kolorektalem Karzinom gegenüber gesunden Probanden signifikant erhöht waren und stellte Zusammenhänge zwischen dem pathologischen Staging und der Höhe der HGF-Freisetzung fest (Fukuura, 1998).

Erhöhte HGF-Konzentrationen waren sowohl beim Magenkarzinom, als auch beim Mammakarzinom signifikant mit einer schlechteren Prognose assoziiert, bis dato liegen aber keine Studienergebnisse hinsichtlich der prognostischen Relevanz des HGF beim kurativ-resezierten kolorektalen Karzinom vor (Tanaka, 2003; Sheen-Chen, 2005).

1.11 Fragestellung

Entsprechend der Qualitätskriterien der European Group on Tumour Markers (EGTM) sollen in der hier vorliegenden Arbeit Antworten gegeben werden auf Fragen bezüglich der prognostischen Aussagekraft und des klinischen Einsatzes von CEA, CA 19-9, CA 242, CA 72-4, CYFRA 21-1, hCG β , S100 und HGF beim nicht-metastasierten kolorektalen Karzinom:

- Lassen sich anhand präoperativ gemessener Tumormarkerwerte Aussagen über das rezidivfreie Intervall und das Überleben machen?
- Inwieweit unterscheiden sich die Ergebnisse der prognostischen Evaluierung hinsichtlich des rezidivfreien Intervall und des Überlebens?
- Inwieweit unterscheiden sich die Ergebnisse der prognostischen Evaluierung in klinisch unterschiedlichen Prognosegruppen.
- Besteht im Vergleich zu anderen bereits etablierten Faktoren eine unabhängige prognostische Relevanz präoperativ gemessener Tumormarker?
- Lässt sich die von der AJCC beschriebene, hohe prognostische Relevanz des CEA an großer Fallzahl bestätigen?
- Ist es möglich, einen Prognoseindex zu definieren, der alle unabhängigen Prognoseparameter implementiert?

2 MATERIAL UND METHODE

2.1 Patienten

Patienten mit der Diagnose Kolorektales Karzinom, die sich im Zeitraum Januar 1986 bis Juni 2002 in der Chirurgischen Klinik Großhadern einer Operation mit kurativer Intention unterzogen haben und bei denen die präoperativen Werte der Serumentumormarker CEA und CA 19-9 bekannt waren, wurden ausgewählt und ihr klinischer Verlauf retrospektiv anhand der Akten des Chirurgischen Archivs sowie des Zentralarchivs Großhadern verfolgt.

Bei 1361 Patienten waren die präoperativen Tumormarkerwerte CEA und CA 19-9 bekannt. Nach Berücksichtigung der in Tabelle 9 genannten Ausschlusskriterien konnten insgesamt 1089 Patienten in die Auswertung aufgenommen werden (Kollektiv I).

Parallel hierzu wurden sechs weitere (CA 242, CA 72-4, CYFRA 21-1, hCGB, S100 und HGF) Tumormarker nachgemessen. Es wurden alle Patienten aus Kollektiv I ausgewählt, bei denen eine Restprobe des präoperativ abgenommenen, tiefgefrorenem Blutserum vorhanden war. 450 Patienten wurden in die Auswertung aufgenommen (Kollektiv II).

Tabelle 9: Ausschlusskriterien

Ausschlusskriterium	N
Zweit- und Doppelkarzinome	140
Unvollständiges Tumorstaging	6
Unvollständige Nachsorgeinformationen (mind. 6 Monate bei Pat. die überlebt haben bzw. rezidivfrei waren)	37
Unklare Todesursache oder Tod innerhalb der ersten 30 Tage nach Operation	51
Präoperative neoadjuvante Behandlung	38

Alle Patienten wurden nach den üblichen Standardverfahren behandelt. Nach operativer Entfernung des Tumors wurden bei gegebener Indikation adjuvante Therapien durchgeführt. Die postoperativen Nachsorgeuntersuchungen umfassten Anamnese, Laboruntersuchung und Tumormarkerbestimmung, körperliche Untersuchung, Röntgenuntersuchung des Thorax, Abdomensonographie und Endoskopie. Gegebenfalls wurde eine Computertomographie durchgeführt.

Jeder Tumor wurde histopathologisch klassifiziert bezüglich der Tumordinfiltrationstiefe pT, des Lymphknotenstatus pN, des histologischen Typs, des Tumorgradings. Außerdem wurde die Lokalisation berücksichtigt.

2.2 Übersicht

Eine Übersicht über die Patientendaten des Kollektivs I ist in Tabelle 10 dargestellt.

Von den 1089 Patienten waren 56% männlichen und 44% weiblichen Geschlechts. Das mittlere Alter zum Zeitpunkt der Primärtherapie lag bei $64,8 \pm 11,4$ Jahren.

Die Tumoren waren mit jeweils 40% annähernd gleichhäufig im Kolon und im Rektum lokalisiert. 20% der Patienten hatten ein Sigmakarzinom. Für die weitere Auswertung wurden Kolon- und Sigmakarzinome zusammengefasst.

Hinsichtlich des Gradings waren mehr als 60% der Tumoren gut differenziert (G1+2). Bei ca. 40% lag ein schlechterer Differenzierungsgrad (G3+4) vor. In über 90% der Fälle handelte es sich um Adenokarzinome.

Bezüglich der Verteilung der Tumoren nach Tumordinfiltrationstiefe handelte es sich am Häufigsten um T3-Tumoren (56%). Nur wenige Patienten hatten einen T1 oder T4-Tumor (11 und 8%). Bei annähernd 70% der Patienten wurde primär kein Lymphknotenbefall festgestellt. In 30% der Fälle war der Lymphknotenstatus positiv (N1+N2). Der Beobachtungszeitraum lag zwischen 1 und 213 Monaten. Von den 1036 Patienten, bei denen Informationen hinsichtlich Rezidivierung vorlagen, blieben 780 Patienten rezidivfrei.

Die durchschnittliche rezidivfreie Zeit lag bei 63,5 Monaten (Median 59,3 Monate; Bereich 6,0 – 176,9 Monate).

In der Gruppe der Patienten mit Rezidivierung hatten 72 Patienten ausschließlich ein Lokoregionäres Rezidiv. Bei 25 Patienten war im Verlauf neben einem Lokoregionären Rezidiv eine Fernmetastasierung aufgetreten. Ausschließlich eine Fernmetastasierung trat bei 159 Patienten auf.

Das Überleben konnte bei allen Patienten ausgewertet werden. Insgesamt 157 Patienten waren tumorbedingt verstorben, davon 137 in den ersten 5 Jahren nach Primärtherapie.

Die durchschnittliche Überlebensdauer lag bei 67,9 Monaten (Median 61,0 Monate; Bereich 6,0 – 212,6 Monate).

Um das rezidivfreie Überleben und das Überleben zu analysieren, wurden die Patienten in zwei Prognosegruppen unterteilt:

In der günstigen Prognosegruppe (GPG) befanden sich Patienten mit einem Kolonkarzinom

Stadium I-II oder Rektumkarzinom Stadium I. In der ungünstigen Prognosegruppe (UPG) befanden sich Patienten mit einem Kolonkarzinom Stadium III oder einem Rektumkarzinom Stadium II oder III. Die Unterteilung in diese Prognosegruppen wurde anhand der gängigen Empfehlungen zur Indikation für eine adjuvante Therapie vorgenommen (Junginger, 1999). Insgesamt befanden sich 616 Patienten in der günstigen und 473 Patienten in der ungünstigen Prognosegruppe. Die klinischen Daten der 450 Patienten des Kollektivs II können der Tabelle 11 entnommen werden.

Tabelle 10: Übersicht Patientendaten Kollektiv I (n=1089)

	Anzahl Patienten (%)		
	Alle	GPG	UPG
Geschlecht	1089	616	473
Weiblich	484 (44)	279 (45)	205 (43)
Männlich	605 (56)	337 (55)	268 (57)
Alter (Median)	65.2 Jahre	66.2 Jahre	63.6 Jahre
Lokalisation	1089	616	473
Kolon	440 (40)	315 (51)	125 (26)
Sigma	227 (21)	154 (25)	73 (16)
Rektum	422 (40)	147 (24)	275 (58)
Grading	1069	601	468
G1	17 (1.6)	15 (2)	2 (1)
G2	663 (62)	408 (68)	255 (54)
G3	385 (36)	174 (29)	211 (45)
G4	4 (0.4)	4 (1)	-
Histologischer Typ	1056	594	190
Adenokarzinom	970 (92)	553 (93)	417 (90)
Andere	86 (8)	41 (7)	45 (10)
T¹	1093	616	473
pT1	120 (11)	106 (17)	14 (3)
pT2	273 (25)	214 (35)	59 (12)
pT3	609 (56)	252 (41)	357 (76)
pT4	87 (8)	44 (7)	43 (9)
N¹	1089	616	473
pN0	737 (68)	616 (100)	121 (25)
pN1	244 (22)	-	244 (52)
pN2	108 (10)	-	108 (23)
UICC stage¹	1089	616	473
I	320 (30)	320 (52)	-
II	417 (38)	296 (48)	121 (26)
III	352 (32)	-	352 (74)
Adj. Therapie	297	11	286
Chemotherapie allein	104 (35)	2 (18)	102 (36)
Bestrahlung allein	82 (28)	6 (55)	76 (26)
Radio-Chemotherapie	111 (37)	3 (27)	108 (38)
Follow up (Median)	56.1 Monate	59.8 Monate	51.6 Monate
Rezidiv	256/1036 (25)	83/574 (15)	173/462 (37)
Tod (tumorbedingt)	157/1089 (14)	51/616 (8)	106/473 (22)

¹pTNM Klassifikation nach UICC 1997, GPG = günstige Prognosegruppe, UPG = ungünstige Prognosegruppe

Tabelle 11: Übersicht Patientendaten Kollektiv II (n=450)

	Anzahl Patienten (%)		
	Alle	GPG	UPG
Geschlecht	450	260	190
Weiblich	196 (44)	118 (45)	78 (41)
Männlich	254 (56)	141 (55)	112 (59)
Alter (Median)	64.8 Jahre	65.1 Jahre	63.8 Jahre
Lokalisation	450	260	190
Kolon	190 (42)	148 (57)	42 (22)
Sigma	85 (19)	53 (20)	32 (17)
Rektum	175 (39)	59 (23)	116 (61)
Grading	448	255	187
G1	2 (0.5)	2 (1)	-
G2	263 (60)	166 (65)	97 (52)
G3	174 (39)	84 (33)	90 (48)
G4	2 (0.5)	2 (1)	-
Histologischer Typ	436	251	185
Adenokarzinom	403 (92)	234 (93)	169 (91)
Andere	33 (8)	17 (7)	16 (9)
T¹	450	260	190
pT1	39 (9)	35 (13)	4 (2)
pT2	125 (28)	99 (38)	26 (14)
pT3	253 (56)	108 (42)	145 (77)
pT4	33 (7)	18 (7)	15 (8)
N¹	450	260	190
pN0	308 (68)	260 (100)	48 (25)
pN1	104 (23)	-	104 (55)
pN2	38 (8)	-	38 (20)
UICC stage¹	450	260	190
I	134 (30)	134 (52)	-
II	174 (39)	126 (48)	48 (24)
III	142 (31)	-	142 (76)
Adj. Therapie	128	7	121
Chemotherapie allein	40 (31)	2 (29)	38 (32)
Bestrahlung allein	23 (18)	2 (29)	21 (17)
Radio-Chemotherapie	65 (41)	3 (42)	62 (51)
Follow up (Median)	59.8 Monate	61.6 Monate	53.6 Monate
Rezidiv	121/423 (29)	44/238 (18)	77/185 (42)
Tod (tumorbedingt)	78/450 (17)	31/260 (12)	47/190 (25)

¹pTNM Klassifikation nach UICC 1997, GPG = günstige Prognosegruppe, UPG = ungünstige Prognosegruppe

In Anlehnung an die größte und prospektive Studie bezüglich des CEA beim Kolonkarzinom (Harrison) wurde zusätzlich eine Untergruppe des Kollektiv I multivariat ausgewertet. Hierbei

wurden alle Patienten mit Kolonkarzinomen Stadium I oder II berücksichtigt.

Tumormarkerbestimmungen

Bis auf die Bestimmung von hCG β (Finnland) wurden alle Tests im Institut für Klinische Chemie am Klinikum Großhadern durchgeführt.

2.2.1 CEA

Die Bestimmung der CEA-Werte erfolgte mit dem AxSYM CEA Testkit der Firma Abbott (Abbott Laboratories, Chicago, Illinois, USA). Dieser Test beruht auf dem Prinzip des Mikropartikel-Enzymimmunoassays (MEIA) und lässt sich wie folgt beschreiben:

1. Die Probe und die mit Anti-CEA beschichteten Mikropartikel werden inkubiert, das in der Probe enthaltene CEA wird an die mit Anti-CEA beschichteten Mikropartikel gebunden, es bildet sich ein Antigen-Antikörper-Komplex.
2. Ein Teil des Reaktionsgemisches wird auf eine Glasfibrermatrix übertragen, die Mikropartikel werden irreversibel an die Matrix gebunden.
3. Das ungebundene Material wird aus der Matrix gewaschen
4. Das Konjugat aus Anti-CEA und alkalischer Phosphatase wird auf die Matrix pipettiert und bindet an den Antikörper-Antigen-Komplex aus Schritt 1.
5. Das ungebundene Material wird aus der Matrix gewaschen
6. Das Substrat (4-Methylumbelliferyl-Phosphat) wird zugegeben und das fluoreszierende Produkt optisch gemessen.

Die Intra- und Interassay-Varianz lag unterhalb der geforderten 5%- bzw. 10%-Grenze.

2.2.2 CA 19-9

Zur Bestimmung des CA 19-9 wurden unterschiedliche Tests verwendet (s. Methodenvergleich)

- CA 19-9 ES6 (Elecsys ES 600)
- CA 19-9 EL1 (Elecsys ES2010)
- CA 19-9 EL2 (Elecsys ES2010 neu)

Beim Enzymun CA 19-9 Test handelt es sich um einen Einschritt-Sandwich-Enzymimmunoassay (EIA) auf Streptavidin-Basis (Firma Boehringer Mannheim, Mannheim,

Deutschland). (Testprinzip EIA s. CA 242)

Der Elecsys CA 19-9 EL1 und CA 19-9 EL2 ist ein Elektrochemiluminszenzimmunoassay ECLIA (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland). (ECLIA s. nächstes Kapitel)

2.2.3 CA 19-9, CA 72-4, CYFRA 21-1, S100

Für die Bestimmung der Werte von CA 72-4, CYFRA 21-1 und S100 wurde der Elecsys Analysenautomat der Firma Roche verwendet (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland). Dieser ElektroChemiLuminszenzImmunAssay (ECLIA) beruht auf dem Sandwichprinzip und umfasst folgende Schritte:

1. Erste Inkubation: 10 µl Probe bilden zusammen mit einem biotinylierten monoklonalen CA 19-9 spezifischen Antikörper und einem mit Ruthenium-Komplex * markierten monoklonalen CA 19-9 spezifischen Antikörper einen Sandwich-Komplex.
2. Zweite Inkubation: Streptavidin beschichtete Mikropartikel werden hinzugegeben. Der Komplex bindet aufgrund der Biotin-Streptavidin Wechselwirkung an die Festphase.
3. Das Reaktionsgemisch wird in die Messzelle überführt, wo die Mikropartikel durch magnetische Wirkung auf die Oberfläche der Elektrode fixiert werden. Ungebundene Substanzen werden mit ProCell entfernt. Das Anlegen einer Spannung induziert eine Chemilumineszenzemission, die mit dem Photomultiplier gemessen wird.
4. Die Ergebnisse werden anhand einer Kalibrationskurve ermittelt. Diese wird durch eine 2-Punkt Kalibration und eine über den Reagenzbarcode mitgelieferte Masterkurve gerätespezifisch generiert.

Die Intra- und Interassay-Varianz lag unterhalb der geforderten 5%- bzw. 10%-Grenze.

*Tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II)-Komplex ($\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$)

2.2.4 CA 242

CA 242 wurde mit dem CA 242 EIA Testkit der Firma CanAg bestimmt (CanAg Diagnostics, Gothenborg, Sweden). Dieser Solid-Phase-Non-Competitive Assay arbeitet nach folgendem Prinzip:

1. Die Patientenprobe und die Standardkontrolle werden zusammen mit biotinylierten Anti-CanAg Antikörpern in Streptavidin beschichteten Mikrotiter Vertiefungen inkubiert. Das CanAg-Antigen bildet mit anti-CanAg MAb einen Antigen-

Antikörper-Komplex.

2. Die Mikrotiterstreifen werden gewaschen und mit HRP C242 MAb inkubiert.
3. Anschließend wird gepuffertes Substrat bzw. Chromogenreagenzien (hydrogen peroxide and 3,3',5',5' tetra-methylbenzidine) jeder Vertiefung hinzugefügt und so die Enzymreaktion gestartet.
4. Ist das Antigen vorhanden, so wird dies durch das Erscheinen von blauer Farbe, während der Enzymreaktion, signalisiert.
5. Die Intensität der Farbe korreliert mit der in den Proben enthaltenen Menge an CA242-Antigen und wird mit einem Spektrophotometer bei 620 nm (oder optional bei 405 nm nach Zugabe von Stopplösung) gemessen.
6. Für jeden Test werden Standardkurven durch das Plotten der Absorption gegen die Konzentration angefertigt. Die CA242 Konzentration der Probe kann dann von der Standardkurve abgelesen werden.

Die Intra- und Interassay-Varianz lag unterhalb der geforderten 5%- bzw. 10%-Grenze.

2.2.5 hCG β

Die hCG β -Serumkonzentration wurde mit dem DELFIA-Testkitt der Firma Wallac gemessen (Wallac, Turku, Finnland).

Das Testprinzip dieses zweiseitigen fluorometrischen Immunoassays sei im Folgenden kurz dargestellt:

1. Streptavidin-Mikrotiterplatten werden mit anti-hCG Antikörpern (gegen alpha- und beta- Untereinheit) beschichtet.
2. Die Patientenprobe und die Standardkontrolle werden zusammen mit Europium-markierten Anti-hCG β Antikörpern (nur gegen β -Untereinheit des hCG) in die Vertiefungen der Mikrotiterplatten eingebracht und inkubiert.
3. Es bilden sich Sandwich-Komplexe: Die freien spezifizierten Anti-hCG β Antikörper binden an die β -Untereinheit des hCGs, die immobilisierten Antikörper der Mikrotiterplatte an die alpha- und β -Untereinheit des hCGs.
4. Enhancementlösung wird hinzugefügt und spaltet Europiumionen von den Europiummarkierten Antikörpern in Lösung ab.
5. Die Fluoreszenz der entstandenen Europium-Chelate wird chromatographisch bei 613 nm gemessen. Sie ist proportional zur hCG β -Konzentration der Patientenprobe.

2.2.6 HGF

Die Konzentration des Hepatocyte growth factor wurde mit dem Quantikine Human HGF Testkit bestimmt (R&D Systems, Wiesbaden, Deutschland). Die Testprinzipien dieses Sandwich-Enzymimmunoassays seien im Folgenden kurz dargestellt:

1. Eine Mikrotiterplatte wird mit einem monoklonalen HGF-spezifischen Antikörper (Anti-HGF) beschichtet.
2. Nach Zugabe von Patientenprobe und Standardkontrolle bindet nach einer bestimmten Inkubationszeit das HGF an den immobilisierten Anti-HGF Antikörper.
3. Ungebundene Substanzen werden durch Zugeben einer Waschpufferlösung entfernt.
4. Ein enzymgebundener polyklonaler Antikörper (HGF-spezifisch) wird hinzugegeben und inkubiert.
5. Es werden erneut ungebundene Substanzen entfernt.
6. Die Vertiefungen werden mit Farbsubstrat angereichert und 30 min inkubiert.
7. Nach Stoppen der Reaktion mit Schwefelsäure wird die entstandene Farbentwicklung photometrisch bei 450 nm ausgewertet.

2.3 Methodenvergleich

Da nicht alle gemessenen CA 19-9-Werte auf der gleichen Testmethode basierten, wurde für diese Arbeit ein Methodenvergleich durchgeführt.

Aufgrund parallel gemessener Werte konnte ein Vergleich zwischen CA 19-9 ES6 und CA 19-9 EL1 (Tabelle 12, Abbildung 4, Abbildung 5) sowie zwischen CA 19-9 EL1 und CA 19-9 EL2 (Tabelle 13, Abbildung 6, Abbildung 7) durchgeführt werden. Für die weitere Auswertung wurden alle Werte der beiden älteren Testmethoden unter Verwendung der Regressionskoeffizienten umgerechnet (Passing, 1984).

Tabelle 12: Methodenvergleich nach Passing/Bablok. CA 19-9 ES6 und CA 19-9 EL1.

Statistik	X: CA 19-9 ES6	Y: CA 19-9 EL1
N	503	503
Mittelwert	29,6	30,7
Median	17,1	16,4
Minimum	0,5	0,6
Maximum	193,0	198,0
Bereich	192,5	197,4

X: ES6 = Elecsys ES600; Y: EL1 = Elecsys ES2010

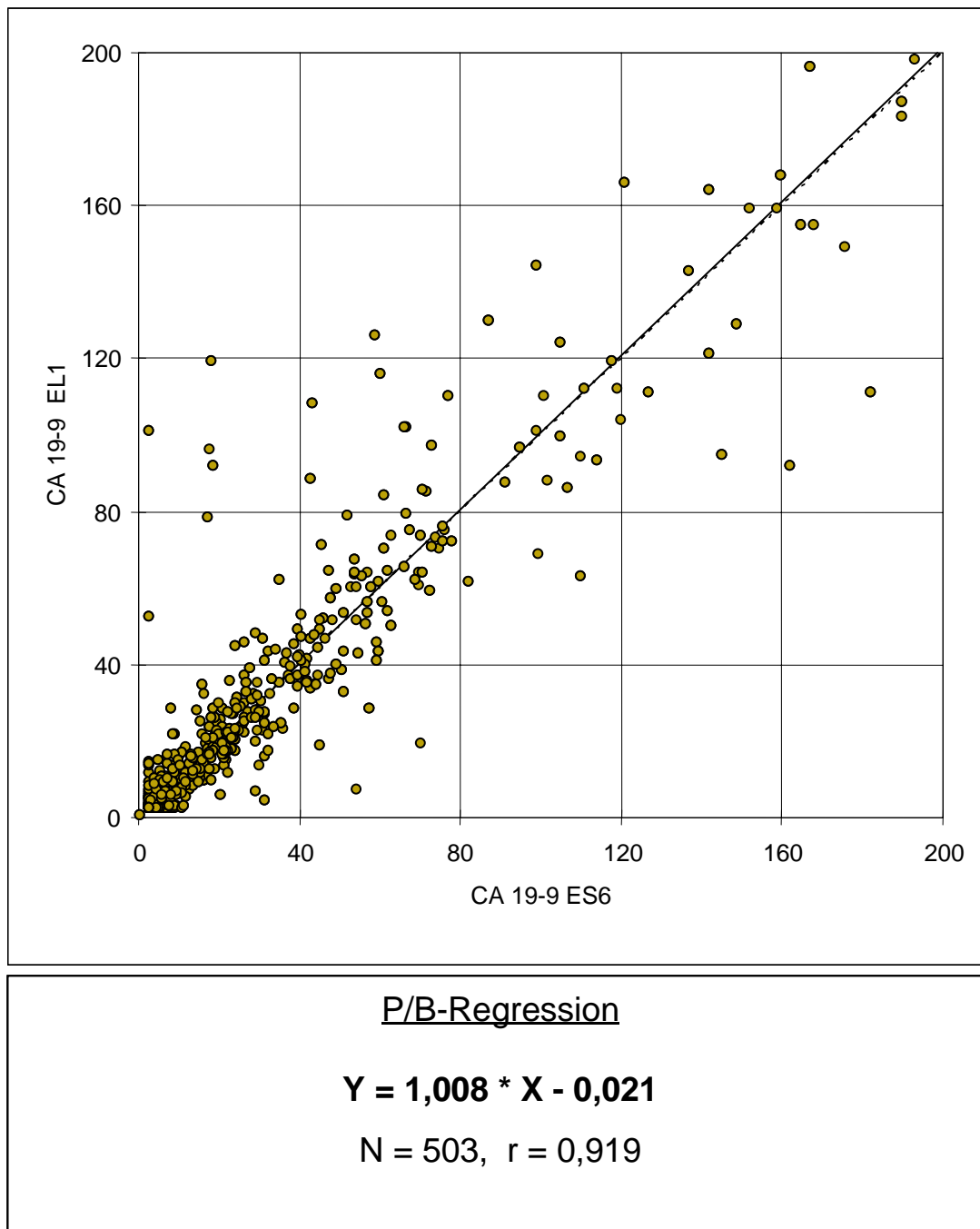


Abbildung 4: Methodenvergleich zwischen CA 19-9 ES6 und CA 19-9 EL1.

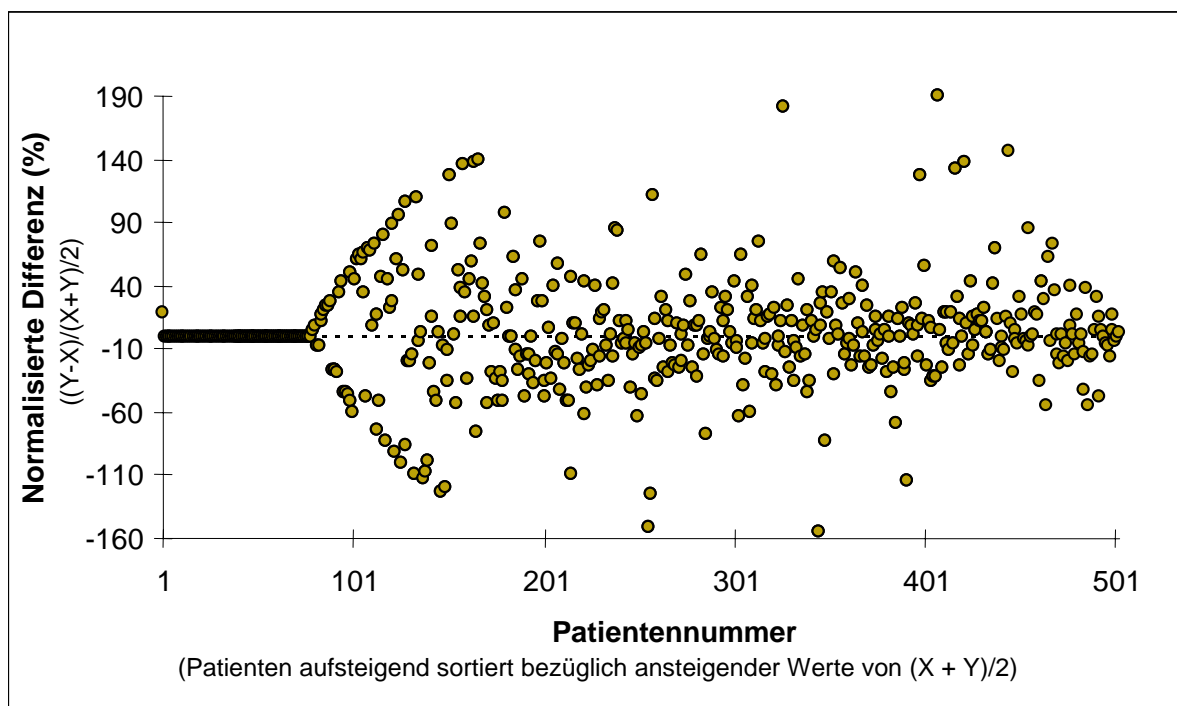


Abbildung 5: Werteabweichung. CA 19-9 ES6 und CA 19-9 EL1.

Tabelle 13: Methodenvergleich nach Passing/Bablok. CA 19-9 EL1 und CA 19-9 EL2.

Statistik	X: CA 19-9 EL1	Y: CA 19-9 EL2
N	383	383
Mittelwert	23,8	22,1
Median	12,6	12,6
Minimum	0,6	0,6
Maximum	167,0	156,0
Bereich	166,4	155,4

X: EL1 = Elecsys ES2010; Y: EL2 = Elecsys ES2010 neu

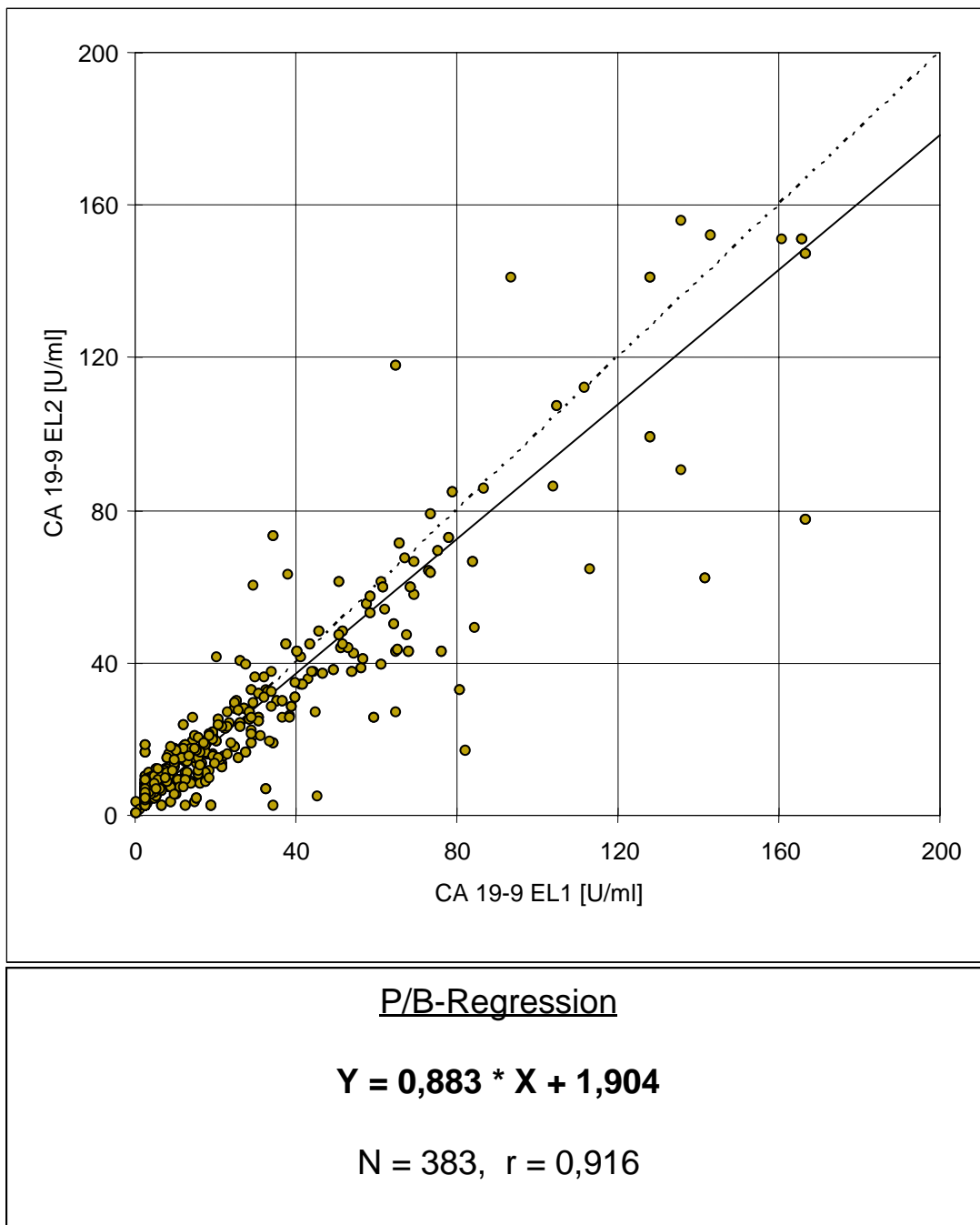


Abbildung 6: Methodenvergleich zwischen CA 19-9 EL1 und CA 19-9 EL2.

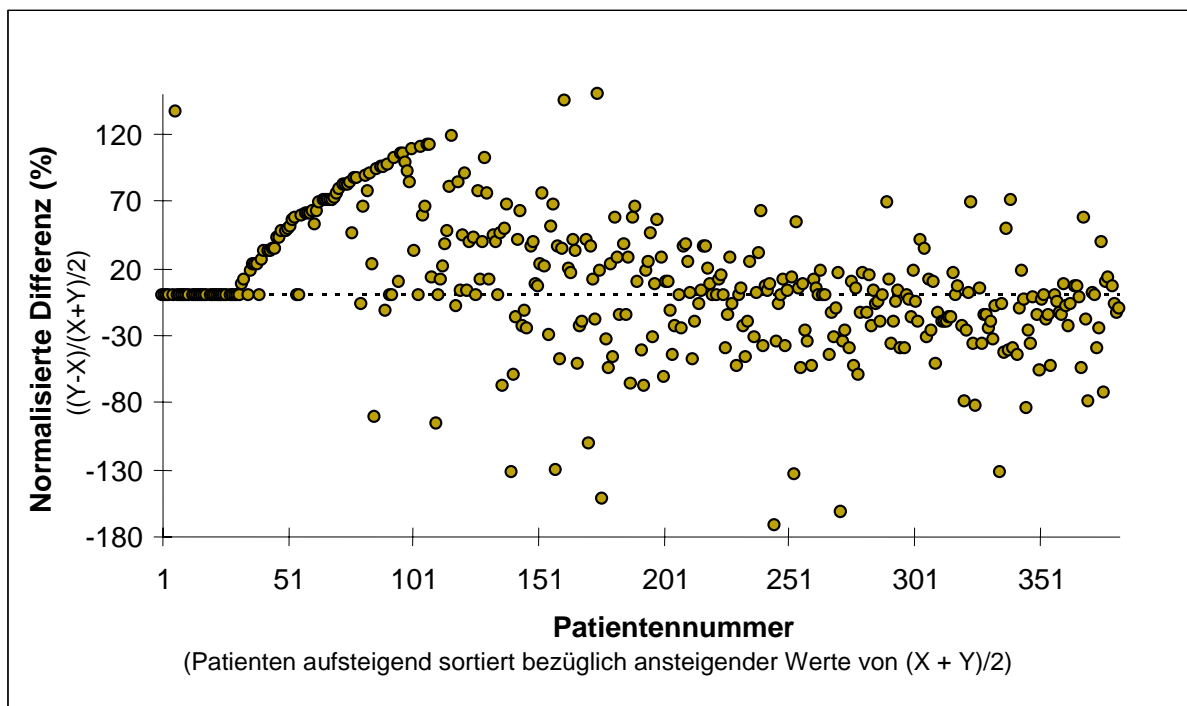


Abbildung 7: Werteabweichung. CA 19-9 EL1 und CA 19-9 EL2.

2.4 Statistik

Für die Darstellung der Tumormarkerwerteverteilung wurden der Median, die erste und dritte Quartile, sowie der Wertebereich bestimmt.

Zur Überprüfung eines Zusammenhangs zwischen Tumorstadium und Tumormarkerfreisetzung wurde eine Varianzanalyse mit einem Test auf linearen Trend durchgeführt. Hierfür wurden die Daten in Ränge transformiert. Die grafische Darstellung erfolgte anhand von Box-Plots.

Um Korrelationen zwischen den verschiedenen Tumormarkern zu analysieren wurde der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman verwendet.

Ob einzelne Parameter Einfluss auf das rezidivfreie Überleben bzw. das Überleben hatten, wurde mit dem Log-rank Test geprüft. Überlebenskurven wurden nach der Methode von Kaplan-Meier (Kaplan, 1958) berechnet und grafisch dargestellt.

Es wurden sowohl das Intervall bis zum Auftreten des ersten Rezidivs (Rezidiv-freies Überleben) als auch der Zeitraum bis zum tumorbedingten Tod (Überleben) berücksichtigt.

2.4.1 Cut-Off-Bestimmung

Für die univariate Analyse mittels Log-rank Test und Kaplan-Meier Kurven müssen stetige Variablen anhand eines Cut-Off-Wertes dichotomisiert werden. Einen bereits etablierten Cut-Off gibt es nur für CEA (5 ng/ml; (Compton, 2000)) Für die übrigen Tumormarker musste ein Cut-Off gesucht werden. Alle gemessenen Tumormarkerwerte zwischen der 5ten und der 95ten Perzentile wurden univariat (Log-rank Test) und multivariat unter Berücksichtigung klinischer Faktoren (Cox-Regressions-Modell) auf Signifikanz überprüft. Gemäß den Empfehlungen von Altman et al. wurde das Signifikanzniveau auf einen P-Wert von 0.0017 ($\chi^2 = 9.85$) adjustiert (Altman, 1994). Um reproduzierbare Cut-Off-Werte zu finden, wurde jeder gefundene signifikante Cut-Off anschließend einem Bootstrap-Verfahren unterzogen und so auf Reproduzierbarkeit überprüft (Schumacher, 1997). Bootstrap ist ein statistisches Verfahren, das aus dem ursprünglichen Kollektiv neue Kollektive mit gleicher Fallzahl jedoch unterschiedlicher Zusammensetzung bildet. In den so gebildeten Kollektiven können manche Patienten des Originalkollektivs überhaupt nicht, andere dagegen mehrfach vorkommen. Nach 100 Bootstrap-Anwendungen wurde schließlich der Cut-Off-Wert gewählt, der am häufigsten multivariat signifikant war.

Die Cut-Off-Bestimmung wurde primär auf das rezidivfreie Überleben limitiert. Nur falls kein signifikanter Cut-Off-Wert gefunden werden konnte, wurde der Algorithmus für das Überleben wiederholt.

2.4.2 Coxsches Regressionsmodell

Alle Parameter, die univariat signifikant waren ($p < 0.05$), gingen in die multivariate Regressions-Analyse nach Cox (Cox, 1972) ein.

Für jeden Tumormarker wurde zunächst eine Stetigkeitsprüfung vorgenommen. Analysiert wurde, ob das relative Risiko (Log (hazard ratio)) an einem Rezidiv zu erkranken in Abhängigkeit von der Tumormarkerkonzentration stetig anstieg. Hierzu wurden die Tumormarkerwerte in Quintile eingeteilt und die Werte auf einer logarithmischen Skala gegen die ebenfalls logarithmierte Hazard ratio grafisch dargestellt. Zeigte ein Tumormarker Stetigkeit, so ging er in logarithmierter Form in die multivariate Analyse ein.

Konnte kein stetiger Anstieg des Rezidivrisikos gefunden werden, so ging der Tumormarker mit Cut-Off in das Coxsche Regressionsmodell ein.

Zur Modellbildung wurde folgende Strategie gewählt: Zunächst wurde ein optimales Modell nur mit klinischen Variablen gesucht. Dann wurden alle Tumormarker entweder als

logarithmierte Variable oder mit Cut-Off simultan in das Modell eingeschlossen und mittels Rückwärts-Selektion nacheinander jeweils derjenige Tumormarker aus dem Modell ausgeschlossen, der den höchsten P-Wert hatte. Dieser Prozess wurde gestoppt, sobald nur noch Variable mit $P < 0.05$ im Modell waren. Es wurde außerdem geprüft, ob sich mittels Vorwärts-Selektion das gleiche Modell ergibt. Da nicht sichergestellt ist, dass mit schrittweiser Variablenselektion das optimale Modell gefunden wird, wurden zusätzlich noch 2 Varianten getestet: Zum einen wurde wegen der sehr hohen Korrelation zwischen CA 19-9 und CA 242 jede dieser Variablen einmal bei der Modellbildung weggelassen. Zum zweiten wurde zusätzlich zu den klinischen Variablen CEA fest in das Modell aufgenommen, da dieser Tumormarker als einziger schon etabliert ist. Als Maß für die Güte dieser so gewonnenen verschiedenen Modelle dient das Informationskriterium von Akaike (Akaike, 1974).

2.4.3 Prognose-Index

Anhand der Koeffizienten des Coxschen Regressionsmodells sollte ein Prognose-Index berechnet werden.

Zuvor wurde der Einfluss einzelner Patienten auf die Koeffizienten des Modells geprüft (Collett, 1994). Dazu wird das Modell einmal mit allen Patienten und dann sukzessive unter Ausschluss jedes einzelnen Patienten gerechnet. Für jeden Patienten und für jeden Parameter kann so die Differenz aus dem ursprünglichen β -Koeffizienten und dem β -Koeffizienten, der sich bei Ausschluss dieses Patienten ergibt, ermittelt werden. Anhand der grafischen Darstellung dieser Differenzen, zum Beispiel gegen die Patienten nach ihrer Überlebenszeit sortiert, lässt sich erkennen, ob einzelne Patienten auf bestimmte β -Koeffizienten sehr starken Einfluss haben. Ein zusätzliches globales Maß für alle Parameter ist die so genannte LMAX-Statistik, die den Einfluss eines Patienten auf die β -Koeffizienten aller Parameter simultan abschätzt. Es wurde festgelegt, dass Patienten mit $LMAX > 0.5$ oder einem $\Delta \beta$ -Koeffizienten > 0.5 zur Berechnung des Prognose-Index aus dem Modell weggelassen werden.

Die beiden Prognosegruppen wurden anhand des jeweiligen Prognose-Index in Tertile geteilt und der Einfluss auf das rezidivfreie Überleben anhand von Kaplan-Meier Kurven dargestellt. Alle statistischen Analysen wurden mit SAS-Software [SAS V8.2, SAS Institute Inc., Cary, NC] berechnet.

3 ERGEBNISSE

Wie bereits im Methodenteil erläutert wurde, basiert die Auswertung dieser Arbeit auf der Unterteilung in zwei Prognosegruppen. In der günstigen Prognosegruppe (GPG) wurden alle Patienten mit Kolonkarzinomen UICC I + II und Rektumkarzinomen UICC I, in der ungünstigen Prognosegruppe alle Patienten mit Kolonkarzinomen UICC III und Rektumkarzinomen UICC II+III berücksichtigt. Die Unterteilung erfolgte gemäß den aktuellen Empfehlungen zur Indikation für eine adjuvante Therapie.

3.1 Kollektiv I (n=1089)

3.1.1 Tumormarker

3.1.1.1 CEA: Werteverteilung

Im Gesamtkollektiv lag der Median des präoperativen CEA-Wertes bei 1.9 ng/ml. In der günstigen Prognosegruppe war die CEA-Freisetzung etwas niedriger (Median 1.8 ng/ml), während in der ungünstigen Prognosegruppe mit einem Median-Wert von 2.1 ng/ml eine etwas höhere CEA-Freisetzung gemessen wurde (Tabelle 14).

Die Freisetzungsmuster des CEA-Wertes bezüglich der Tumordinfiltrationstiefe und des Lymphknotenstatus wurden untersucht (Tabelle 15, Abbildung 8). Der Median der CEA-Werte divergierte signifikant in niedrigen und hohen T-Stadien. Der größte Unterschied zeigte sich zwischen Stadium T1 und T3 (1.1 ng/ml und 2.3 ng/ml).

Hinsichtlich der Medianwerte des CEA-Wertes unter Berücksichtigung des Lymphknotenstatus zeigte sich kein Unterschied zwischen Stadium N0 und N1 (beide 1.9 ng/ml). Ein signifikant höherer Medianwert wurde lediglich in Stadium N2 (2.6 ng/ml) gemessen.

3.1.1.2 CA 19-9: Werteverteilung

Der Median des präoperativen CA 19-9-Wertes lag im Gesamtkollektiv bei 10.5 U/ml. Eine geringere Freisetzung dieses Tumormarkers zeigte sich in der günstigen Prognosegruppe (Median 10.0 U/ml), eine höhere Freisetzung in der ungünstigen Prognosegruppe (Median 11.9 U/ml, Tabelle 14).

Hinsichtlich der CA 19-9-Freisetzung unter Berücksichtigung der Tumordinfiltrationstiefe zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen niedrigen und hohen Stadien. Der Medianwert

des CA 19-9-Wertes lag im Stadium T4 bei 17.1 U/ml und im Stadium T1 bei 8.1 U/ml.

Bezüglich der CA 19-9-Werte und des Lymphknotenstatus zeigten sich signifikante Unterschiede sowohl zwischen dem Stadium N0 und N2, als auch zwischen dem Stadium N0 und N1 (Tabelle 15, Abbildung 9).

Tabelle 14: Tumormarkerkonzentrationen im Gesamtkollektiv und in den unterschiedlichen Prognosegruppen

	Alle Patienten				
	n	Median	Unteres Quartil	Oberes Quartil	Bereich
CEA (ng/ml)	1089	1.9	1.1	4.3	<1 - 391
CA 19-9 (U/ml)	1089	10.5	6.2	23.6	2.5 - 1308
	GPG				
	N	Median	Unteres Quartil	Oberes Quartil	Bereich
CEA (ng/ml)	616	1.8	1.0	3.8	<1 - 388
CA 19-9 (U/ml)	616	10.0	5.9	22.2	2.5 - 628
	UPG				
	N	Median	Unteres Quartil	Oberes Quartil	Bereich
CEA (ng/ml)	473	2.1	1.2	5.0	<1 - 391
CA 19-9 (U/ml)	473	11.9	6.3	26.4	2.5 - 1308

GPG = günstige Prognosegruppe, UPG = ungünstige Prognosegruppe

Tabelle 15: Mediane der Tumormarkerkonzentrationen bezüglich der Tumorinfiltrationstiefe (T) und des Lymphknotenstatus (N)

	T1	T2	T3	T4	p	N0	N1	N2	p
CEA (ng/ml)	1.1	1.7	2.3	2.1	<0.001	1.9	1.9	2.6	0.022
CA 19-9 (U/ml)	8.1	10.2	11.3	17.1	<0.001	9.8	12.5	14.5	0.010

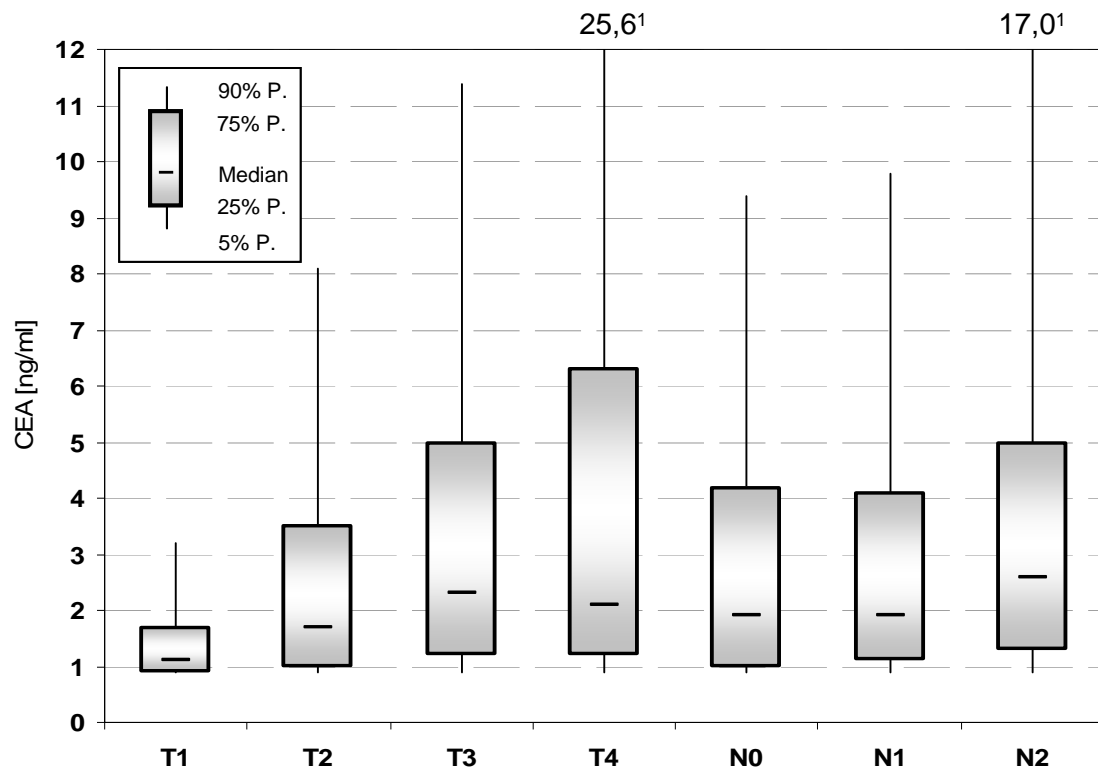


Abbildung 8: CEA-Freisetzung bezüglich T- und N-Stadien. ¹90%-Perzentile. N=1089. T: $p < 0.001$, N: $p = 0.022$.

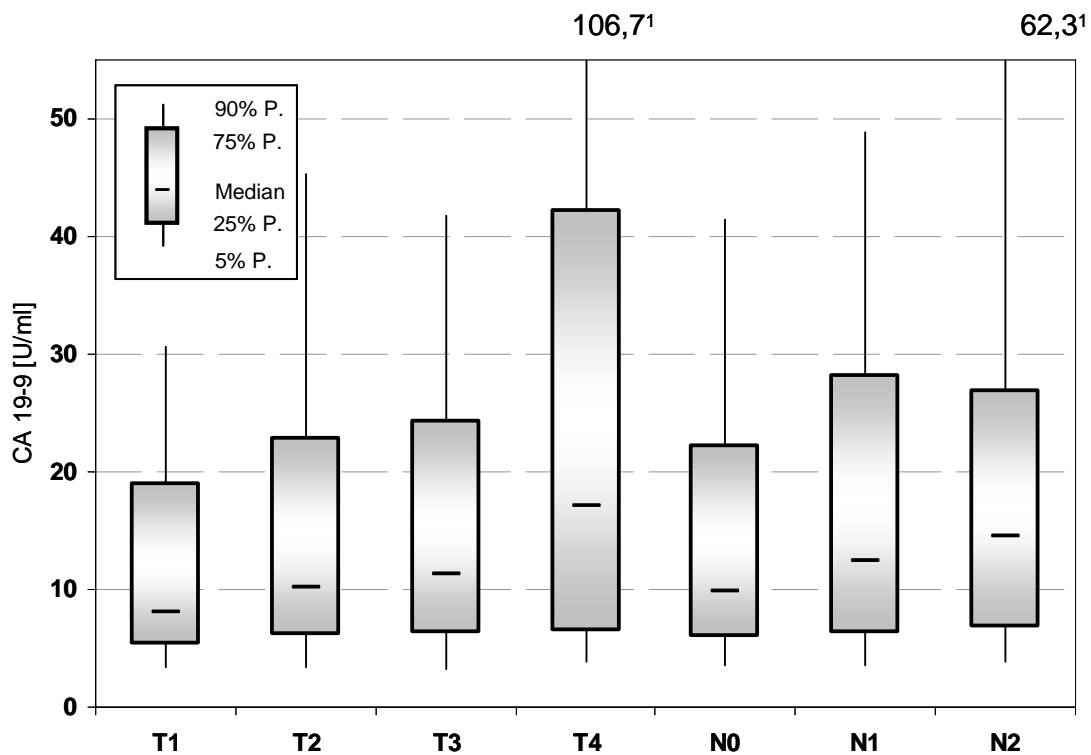


Abbildung 9: CA 19-9-Freisetzung bezüglich T- und N-Stadien. ¹90%-Perzentile. N=1089. T: $p < 0.001$, N: $p = 0.010$.

3.1.1.3 Korrelationen

Es wurde überprüft, ob die Höhe der CEA-Freisetzung mit der Höhe der CA 19-9-Freisetzung korrelierte. Der Spearmansche Korrelationskoeffizient für diese beiden Tumormarker lag bei 0.297 ($p < 0.001$).

3.1.1.4 Cut-Off-Bestimmung

Die Stetigkeitsprüfung der Tumormarker in den Prognosegruppen war nur für Log (CEA) positiv (Abbildung 10). Die Abbildung 10 zeigt in Abhängigkeit von der CEA-Konzentration die logarithmierte Hazard Ratio. Das entspricht dem relativen Risiko an einem Tumorrezidiv zu erkranken. Die Abbildung 11 dient der Veranschaulichung der Stetigkeitsprüfung. Sie zeigt die ab der zweiten Säule stetig ansteigende 2-Jahres-Rezidivierungsrate in Abhängigkeit von der CEA-Konzentration.

CEA ist als kontinuierliche Variable in die multivariate Analyse eingegangen.

Für die univariate Analyse des CEA und die Berechnung der Kaplan-Meier-Kurven musste ein Cut-Off-Wert gewählt werden. Es wurde der von Compton et al. empfohlene Cut-Off-Wert von 5 ng/ml verwendet (Compton, 2000).

Für CA 19-9 wurden nach Anwendung des Optimierungs- und des Bootstrapverfahrens mehrere signifikante Cut-Off-Werte gefunden. Ab einer Konzentration von 50 U/ml war CA 19-9 sowohl uni- als auch multivariat ein signifikanter Prädiktor für das rezidivfreie Überleben (Abbildung 12). Die Cut-Off-Werte 55 U/ml (97 Mal) und 75 U/ml (99 Mal) wurden im Bootstrapverfahren am Häufigsten gefunden. Wie im Kapitel Statistik beschrieben, wurden folglich die Werte 55 U/ml und 75 U/ml für die weitere Auswertung verwendet.

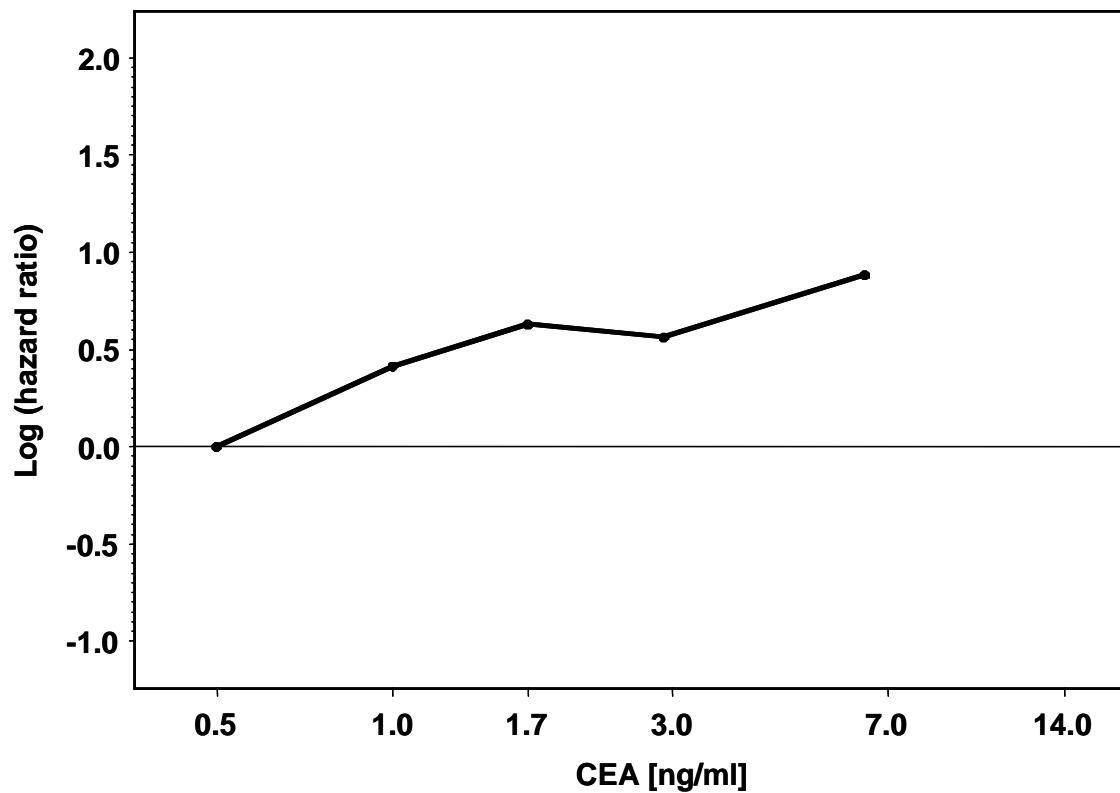


Abbildung 10: Stetigkeitsprüfung für log (CEA). Endpunkt Rezidivierung. • = Logarithmierte Hazard Ratio bezüglich der Quintilen der CEA-Konzentration.

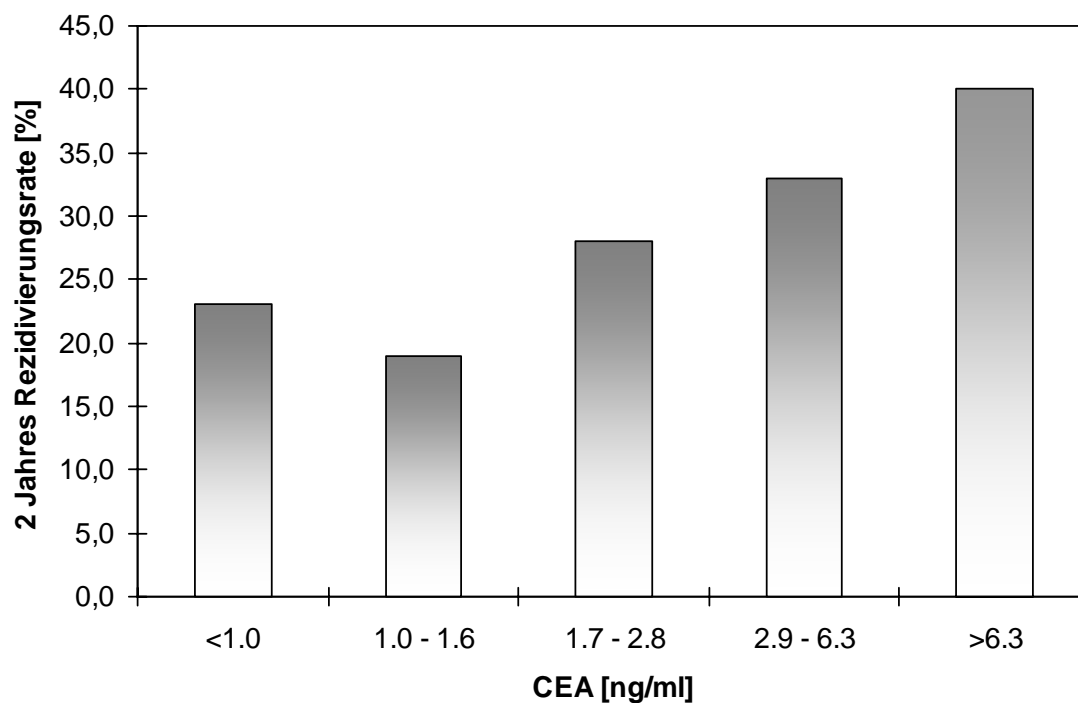


Abbildung 11: Stetigkeitsprüfung anhand der 2-Jahres Rezidivierungsrate in Abhängigkeit von der CEA-Konzentration.

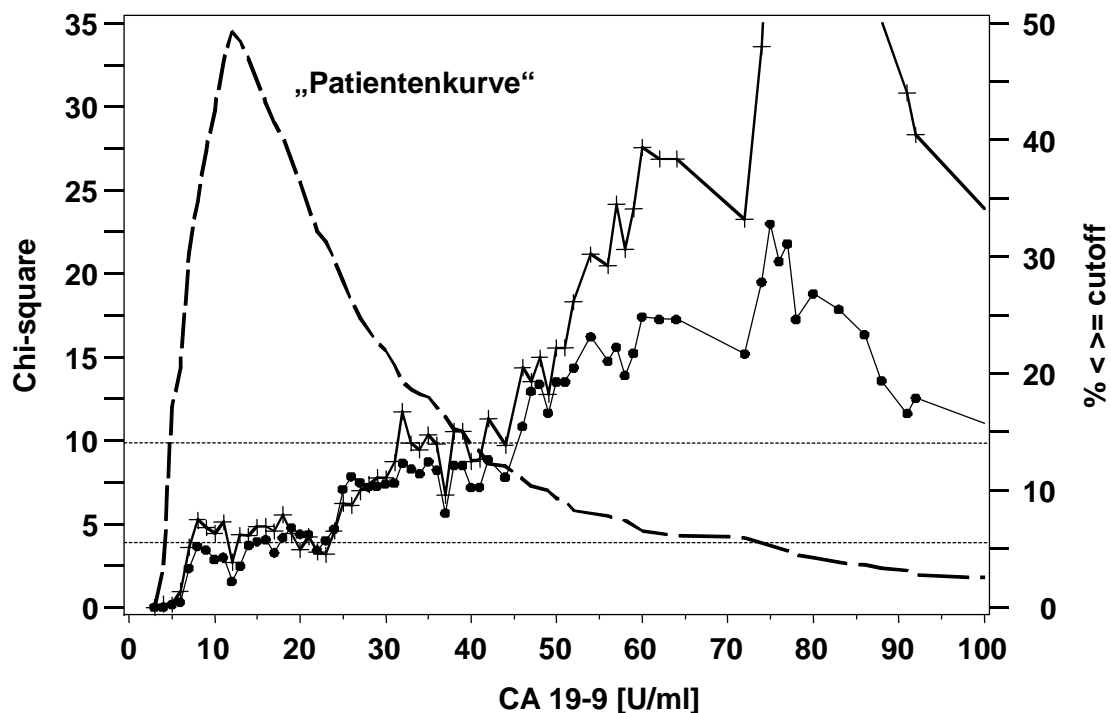


Abbildung 12: Ungünstige Prognosegruppe. Cut-Off Bestimmung für CA 19-9. Endpunkt Rezidivierung. N=462. Untere gestrichelte Horizontallinie: χ^2 -Wert für $p < 0.05$. Obere gestrichelte Horizontallinie: χ^2 -Wert für adjustiertes $p < 0.05$. + = χ^2 -Werte aus dem univariaten Log-rank Test. • = χ^2 -Werte aus der multivariaten Cox-Regressions-Analyse unter Berücksichtigung klinischer Faktoren [T, N + Lokalisation]. Die „Patientenkurve“ zeigt den prozentualen Anteil der Patienten unterhalb oder oberhalb des Cut-Offs. Bootstrap-Verfahren: 55 U/ml = 97 Mal gezogen; 75 U/ml = 99 Mal gezogen.

3.1.2 Univariate Analyse

Anhand von Kaplan-Meier-Überlebenskurven wurde univariat analysiert, ob die Merkmale Prognosegruppe, Alter, Geschlecht, Lokalisation, Grading, Staging, CEA und CA 19-9 Einfluss auf die Rezidivierung und auf das Überleben hatten.

3.1.2.1 Rezidivierung

Prognosegruppe

Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den beiden Prognosegruppen in Bezug auf die Rezidivierung ($p < 0.001$, Tabelle 16). Bereits innerhalb des ersten Jahres begannen die Kaplan-Meier-Kurven zu divergieren. In den ersten 5 Jahren hatten 20% der Patienten der

günstigen Prognosegruppe und 40% der Patienten der ungünstigen Prognosegruppe ein Rezidiv (Abbildung 13).

Alter

Es wurden keine Zusammenhänge zwischen dem Alter der Patienten und der Rezidivierung festgestellt (Tabelle 16).

Geschlecht

Es zeigten sich keine geschlechtsspezifischen Unterschiede in der univariaten Analyse des rezidivfreien Überlebens (Tabelle 16).

Grading

Es zeigte sich ein signifikanter Einfluss der Tumordifferenzierung auf die Häufigkeit einer Rezidivierung ($p=0.002$, Tabelle 16). Die Rezidivfreiheit lag in der Gruppe der besser differenzierten Tumoren bei 85% bzw. 75% nach 2 bzw. 5 Jahren und war somit nur etwa 10% Prozent besser als in der Gruppe schlechter differenzierter Tumoren.

Die Kurve der G3/4-Tumoren divergierte nach einem halben Jahr von der Kurve der G1/2-Tumoren. Ab dem 2. Jahr zeigte sich ein annähernd paralleler Verlauf beider Kurven, der auch in den darauf folgenden Jahren konstant blieb (Abbildung 14).

Innerhalb der Prognosegruppen zeigte das Grading keinen signifikanten Einfluss (Tabelle 17).

Lokalisation

Es konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Lokalisation des Primärtumors und der Rezidivierungshäufigkeit festgestellt werden ($p<0.001$, Tabelle 16). Die beiden Kaplan-Meier-Kurven überlagerten sich zwar in den ersten 1-2 Jahren, divergierten danach aber zunehmend. Nach 5 Jahren hatten Patienten mit einem Rektumkarzinom eine 10-15% höhere Rezidivrate als Patienten mit einem Kolonkarzinom (Abbildung 15).

Innerhalb der ungünstigen Prognosegruppe blieb der Einfluss der Lokalisation auf die Rezidivierung signifikant ($p=0.045$, Tabelle 17).

Tumorinfiltrationstiefe

Mit zunehmender Tumorinfiltrationstiefe nahm die Häufigkeit der Rezidivierung signifikant zu ($p<0.001$, Tabelle 16). Während etwa 95% der Patienten mit einem T1-Tumor in den ersten 5 Jahren nach der Primärtherapie tumorfrei blieben, hatte in der Gruppe der T4-

Tumoren bereits ca. die Hälfte der Patienten ein Rezidiv. Die Kurve der T4-Tumoren verlief vor allem in den ersten beiden Jahren nach der Primärtherapie sehr steil und verdeutlichte die erhöhte Rezidivrate in diesem Zeitraum.

Hinsichtlich des Kurvenverlaufs der Intermediärstadien T2 und T3 war ebenfalls ein deutlicher Unterschied zu kennen. In den ersten 5 Jahren hatten Patienten mit T3-Tumoren eine 15% höhere Rezidivrate gegenüber den Patienten mit T2-Tumoren (Abbildung 16).

Die Ergebnisse blieben auch nach Unterteilung in die beiden Prognosegruppen signifikant ($p < 0.001$, Tabelle 17).

Lymphknotenstatus

Der Einfluss des N-Stadiums auf die Rezidivierung war stark ausgeprägt und hoch signifikant ($p < 0.001$, Tabelle 16). Am deutlichsten divergierte die Kurve der N2-Tumoren von den Kurven der N0/N1-Tumoren in den ersten beiden Jahren. Zwischen den N0 und N1-Tumoren waren die Unterschiede hinsichtlich der Rezidivierung geringer. Die Rezidivfreiheit lag bei etwa 90% bzw. 80% nach 2 Jahren für die Gruppen N0 und N1. Nach 5 Jahren waren 80% in der Gruppe der N0-Tumoren und 65% in der Gruppe der N1-Tumoren rezidivfrei (Abbildung 17).

Innerhalb der ungünstigen Prognosegruppe blieb der Einfluss des Lymphknotenstadiums signifikant ($p < 0.001$, Tabelle 17).

CEA

Um den Einfluss des CEA-Wertes auf die Rezidivierung zu analysieren, wurde in dieser univariaten Analyse ein Cut-Off-Wert von 5 ng/ml verwendet.

Patienten mit erhöhten CEA-Werten hatten eine signifikant höhere Rezidivierungsrate als solche, bei denen CEA-Werte unterhalb 5 ng/ml gemessen wurden ($p < 0.001$, Tabelle 16). Die entsprechenden Kurven divergierten in den ersten 6 Monaten und nahmen ab dem 3. Jahr einen nahezu parallelen Verlauf. Die Kurve der Gruppe oberhalb des Cut-Off-Werts verlief in den ersten beiden Jahren am Steilsten und zeigte, dass in diesem Zeitraum ca. 25% der Patienten ein Rezidiv bekamen (Abbildung 18).

Bei der getrennten Auswertung nach Prognosegruppen hatte CEA signifikanten Einfluss auf die Rezidivierung jedoch nur innerhalb der ungünstigen Prognosegruppe ($p = 0.010$, Tabelle 17, Abbildung 19).

CA 19-9

Zur Berechnung der Kaplan-Meier-Überlebenskurven wurden zwei verschiedene Cut-Off-Werte verwendet (55 und 75 U/ml)

Der Einfluss dieses Tumormarkers auf die Rezidivierung war bei beiden Cut-Off-Werten signifikant (Tabelle 16). Bei Patienten mit Werten oberhalb eines Cut-Offs von 55 U/ml war die Rezidivierungshäufigkeit in den ersten beiden Jahren im Vergleich zum höheren Cut-Off-Wert ca. 15% niedriger. Es zeigte sich ein waagrechter Kurvenverlauf ab dem 4. Jahr nach Primärtherapie (Abbildung 20, Abbildung 21). CA 19-9 hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Rezidivierung in der günstigen Prognosegruppe, während die Signifikanz in der ungünstigen Prognosegruppe erhalten blieb ($p < 0.001$, Tabelle 17, Abbildung 22, Abbildung 23). Es zeigte sich bei der Kurvenanalyse, dass nahezu die Hälfte der Patienten mit CA 19-9-Werten oberhalb 75 U/ml in den ersten beiden Jahren ein Rezidiv erlitt. Die Rezidivierungsrate nahm bis zum 4. Jahr nach der Primärtherapie geringfügig weiter zu und blieb dann konstant.

Tabelle 16: Univariate Analyse des rezidivfreien Überlebens und des Überlebens

	<i>p</i> (χ^2 ; <i>df</i>)	
	DFS	OTS
Prognosegruppe (GPG vs. UPG)	<0.001 (74.7)	<0.001 (45.8)
Alter (<65 J. vs. \geq 65 J.)	NS	NS
Geschlecht	NS	NS
Grading (G1+2 vs G3+4)	0.002 (9.8)	0.039 (4.3)
Lokalisation (Rektum vs. Kolon)	<0.001 (13.2)	0.013 (6.2)
Tumorinfiltrationstiefe T	<0.001 (74.3; 3)	<0.001 (52.2; 3)
Lymphknotenstatus N	<0.001 (133.3; 2)	<0.001 (101.0; 2)
CEA \geq 5 ng/ml	<0.001 (11.7)	0.010 (6.7)
CA 19-9 \geq 55 U/ml	0.004 (8.6)	<0.001 (16.9)
CA 19-9 \geq 75 U/ml	<0.001 (22.5)	<0.001 (28.8)

χ^2 = log-rank χ^2 ; *df* = Freiheitsgrade (Angabe nur bei *df*>1), DFS = Rezidivfreies Überleben, OTS = tumorbedingtes Versterben, GPG = günstige Prognosegruppe, UPG = ungünstige Prognosegruppe, NS= nicht signifikant

Tabelle 17: Univariate Analyse des rezidivfreien Überlebens und des Überlebens in den beiden Prognosegruppen (GPG und UPG)

	<i>p</i> (χ^2 ; <i>df</i>)			
	GPG		UPG	
	DFS	OTS	DFS	OTS
Grading (G1+2 vs. G3+4)	NS ⁶	NS	NS	NS
Lokalisation (Rektum vs. Kolon)	NS	NS	0.045 (4.0)	NS
Tumorinfiltrationstiefe T	<0.001 (18.2; 3)	0.006 (12.4; 3)	<0.001 (41.0; 3)	<0.001 (38.4; 3)
Lymphknotenstatus N (N2 vs. N1+N0)	-	-	<0.001 (46.0; 2)	<0.001 (36.1; 2)
CEA \geq 5 ng/ml	NS	0.046 (4.0)	<0.001 (45.1)	<0.001 (36.1)
CA 19-9 \geq 55 U/ml	NS	NS	<0.001 (20.5)	<0.001 (22.5)
CA 19-9 \geq 75 U/ml	NS	NS	<0.001 (42.1)	<0.001 (46.9)

χ^2 = log-rank χ^2 ; *df* = Freiheitsgrade (Angabe nur bei *df*>1), GPG = günstige Prognosegruppe, UPG = ungünstige Prognosegruppe, DFS = Rezidivfreies Überleben, OTS = tumorbedingtes Versterben, NS= nicht signifikant

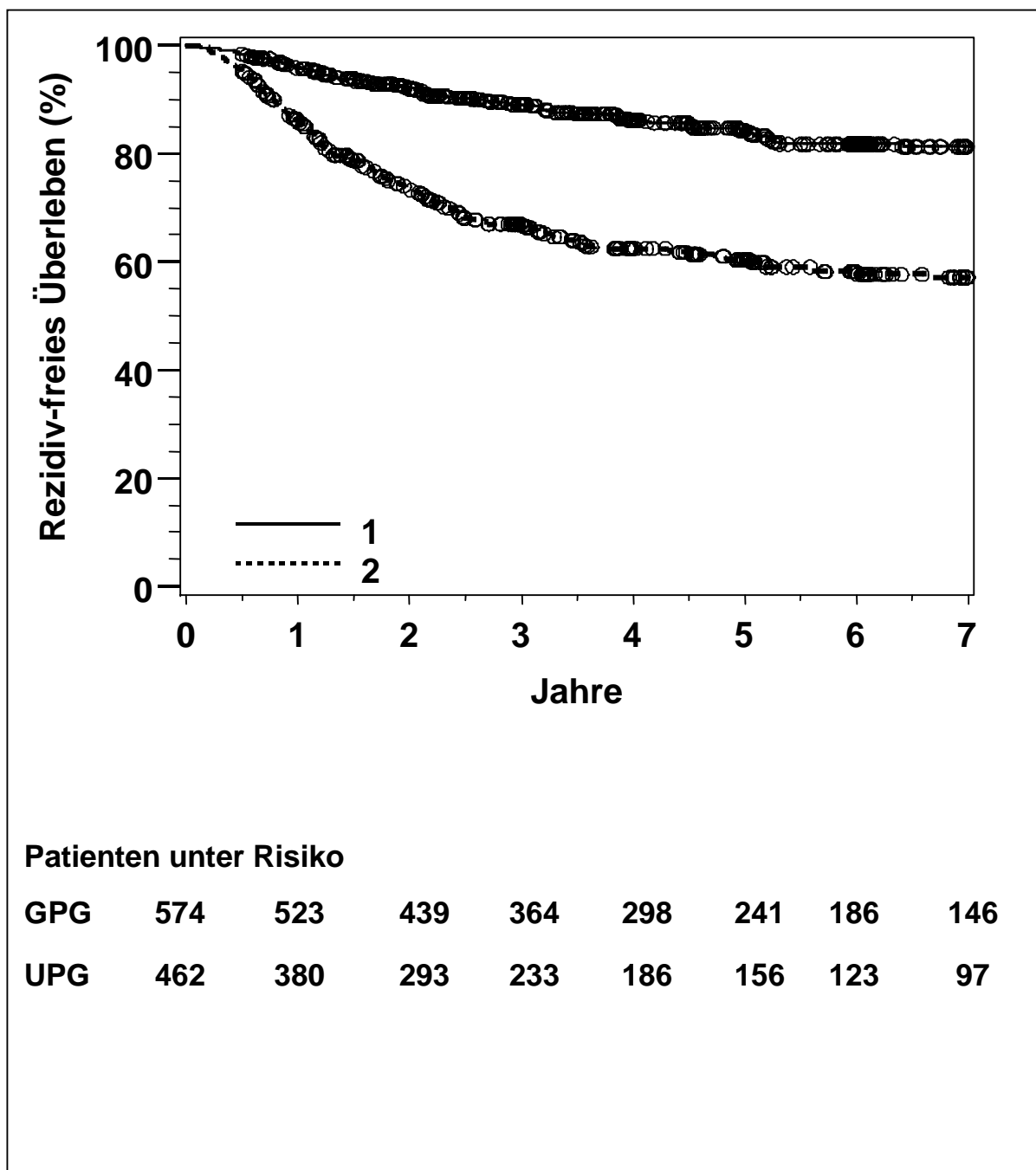


Abbildung 13: Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich der Prognosegruppe. 1: günstige Prognosegruppe (GPG), 2: ungünstige Prognosegruppe (UPG). N=1036, $p < 0.001$.

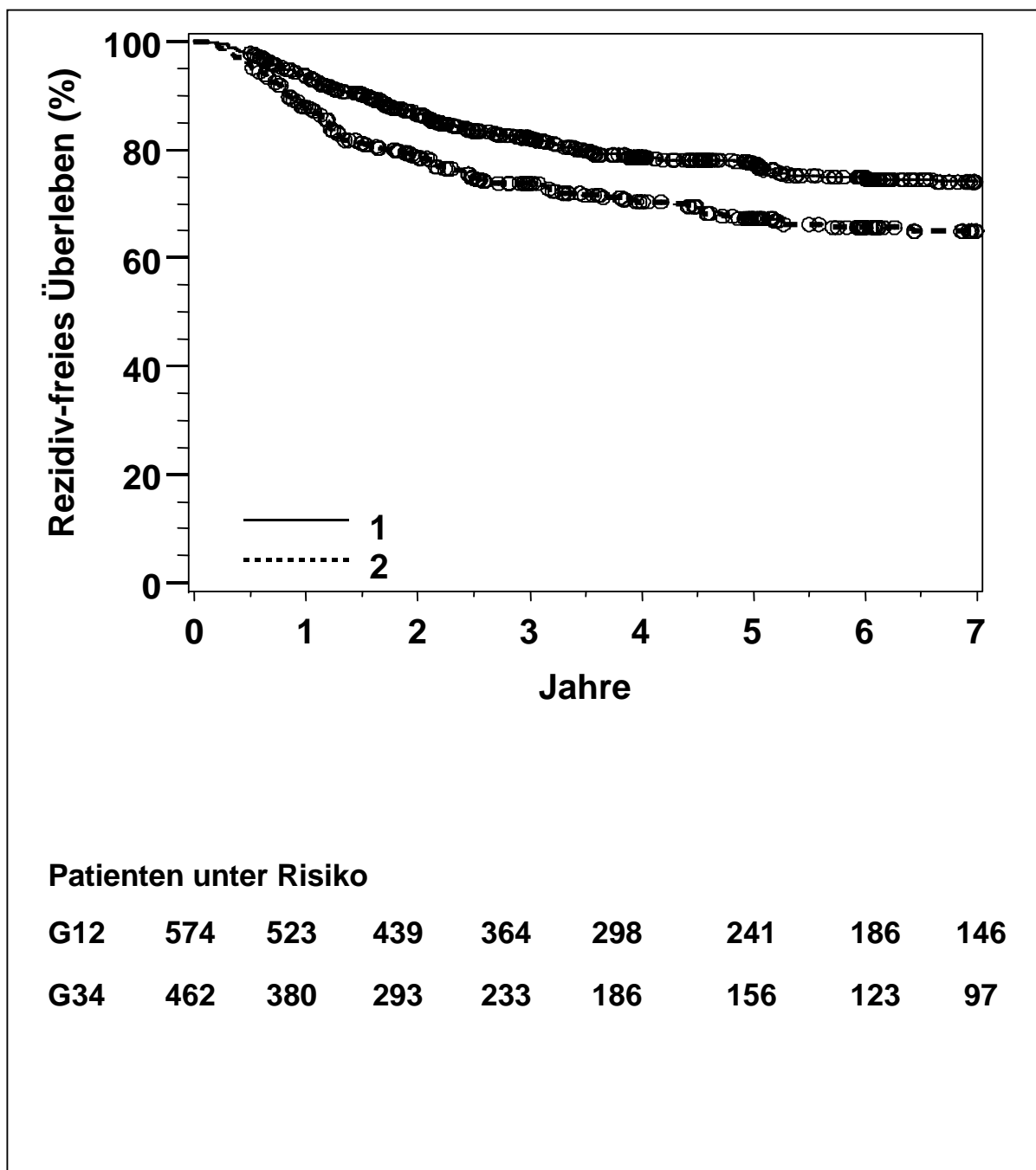


Abbildung 14: Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich des Gradings.
1: G1+G2; 2: G3+G4. N=1036, p=0.002.

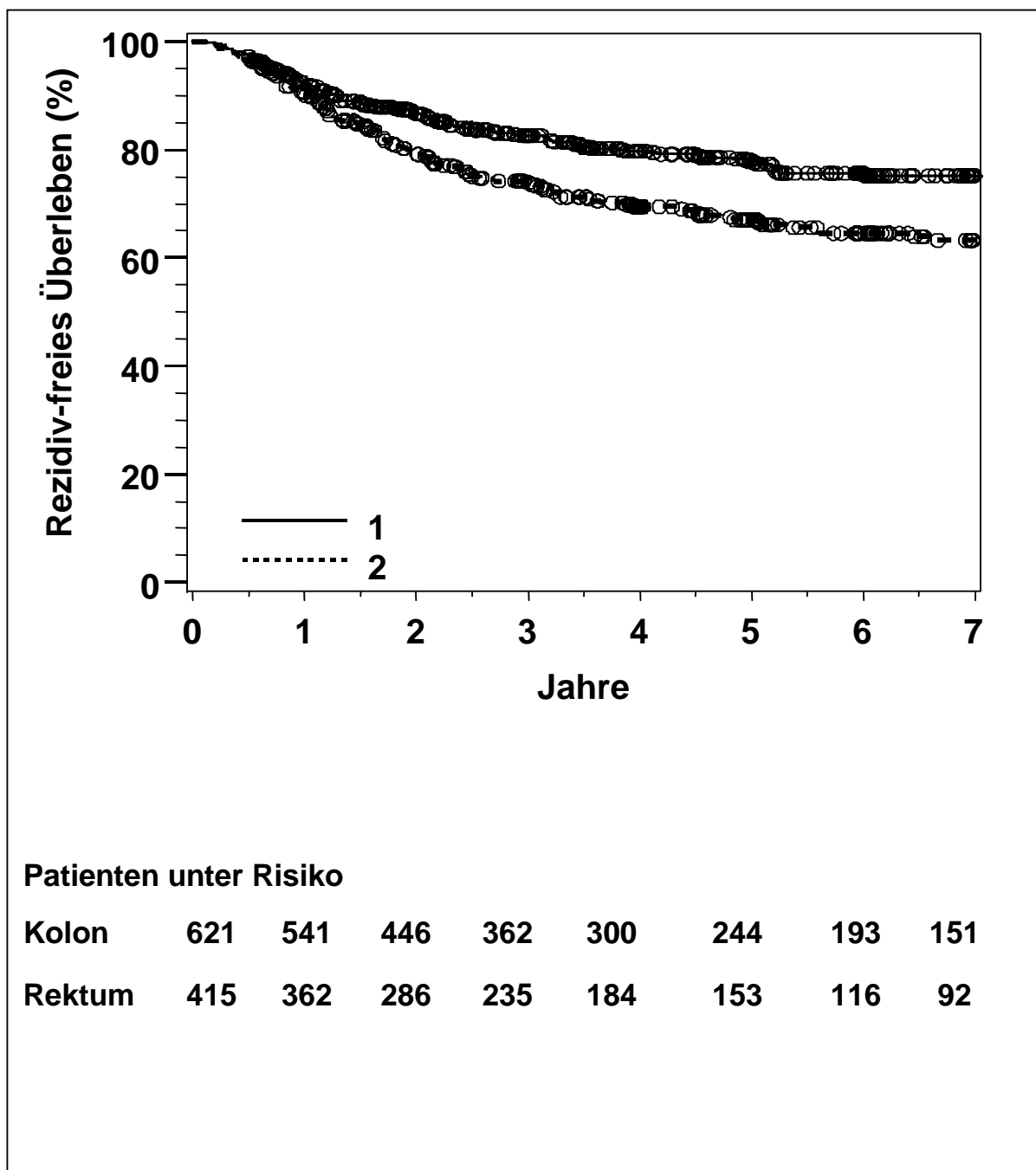


Abbildung 15: Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich der Tumorlokalisation. 1: Kolon; 2: Rektum. N=1036, $p < 0.001$.

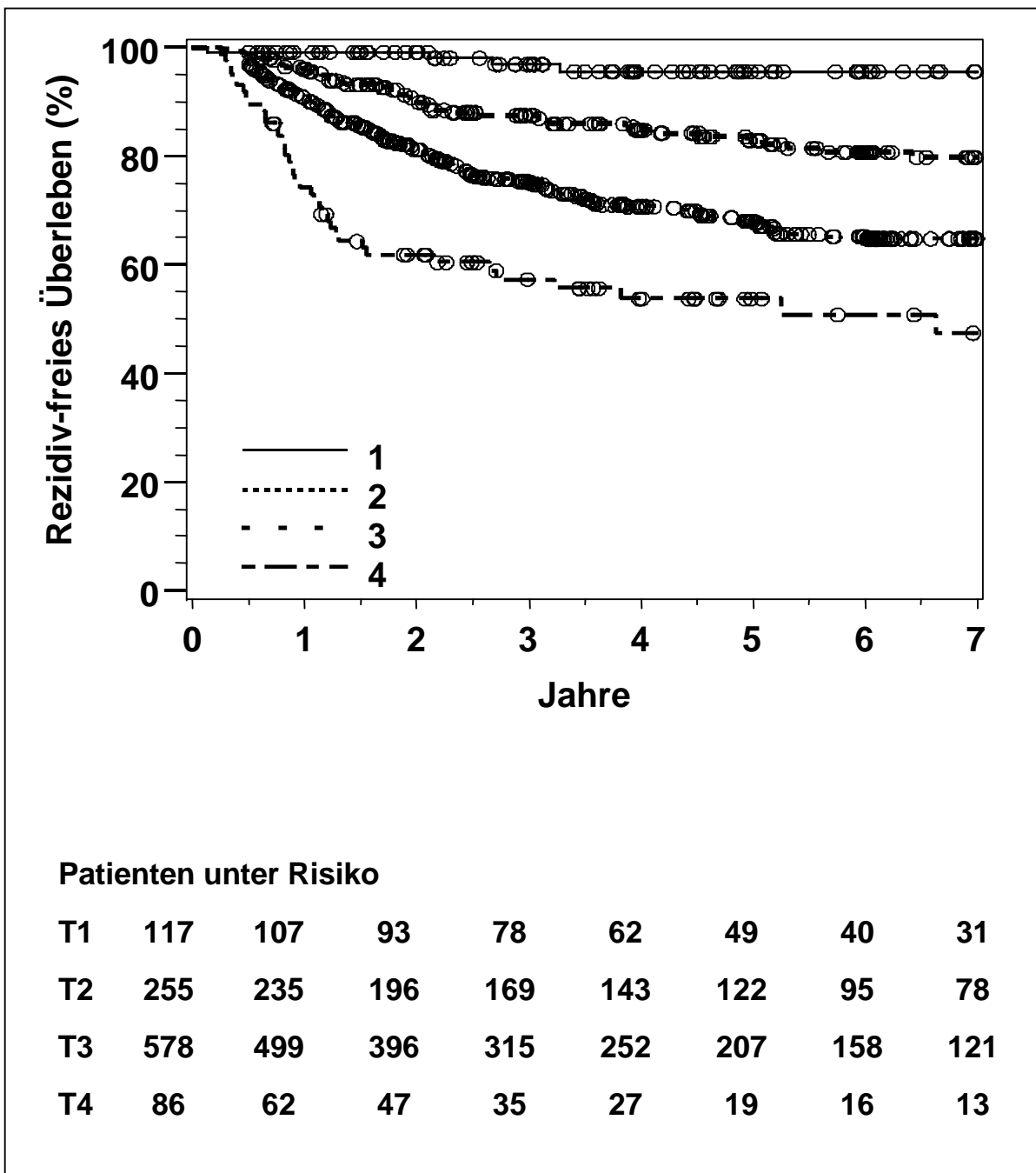


Abbildung 16: Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich der Tumorinfiltrationstiefe. 1: T1; 2: T2; 3: T3; 4: T4. N=1036, $p < 0.001$.

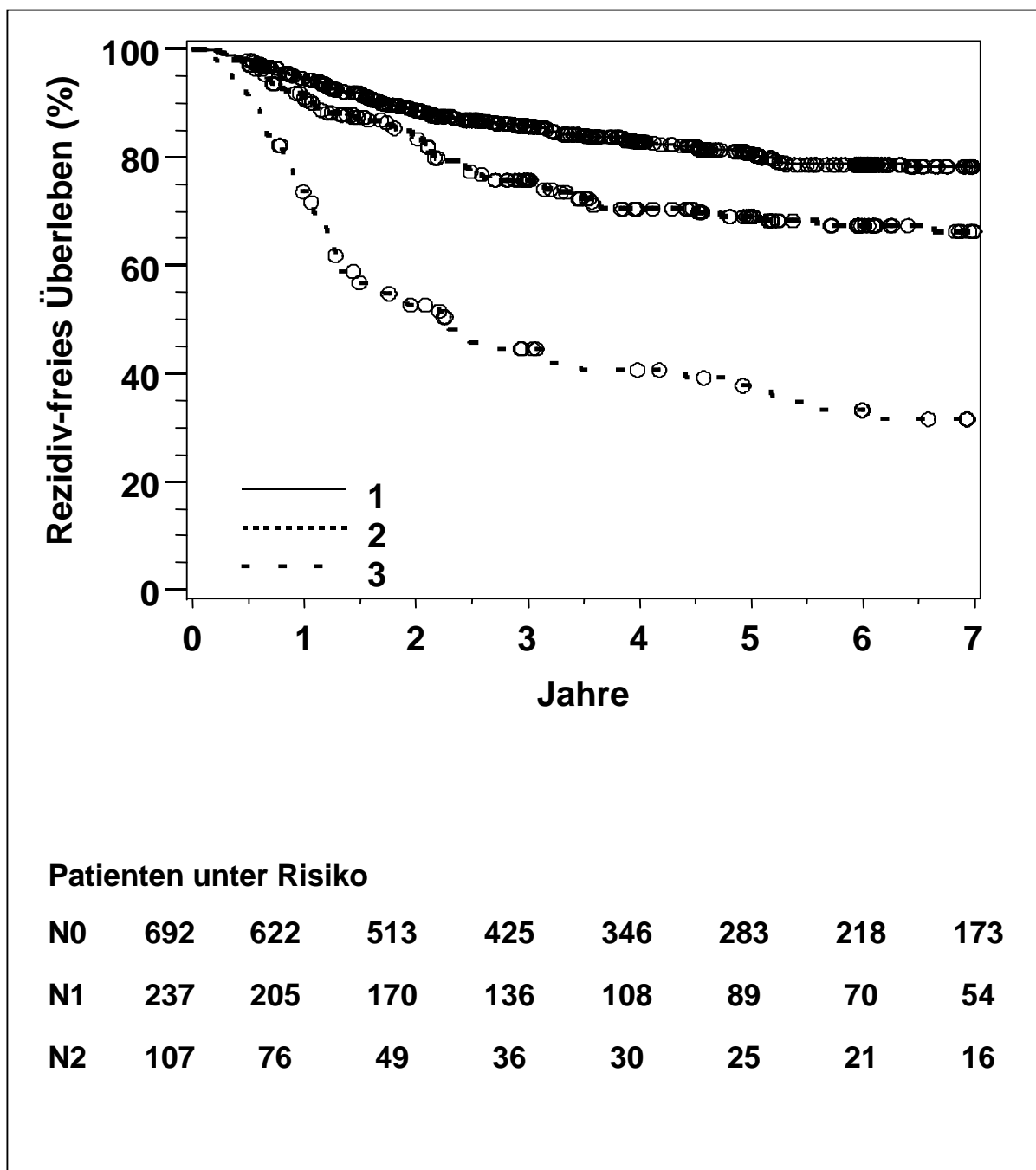


Abbildung 17: Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich des Lymphknotenstatus. 1: N0; 2: N1; 3: N2. N=1036, $p < 0.001$.

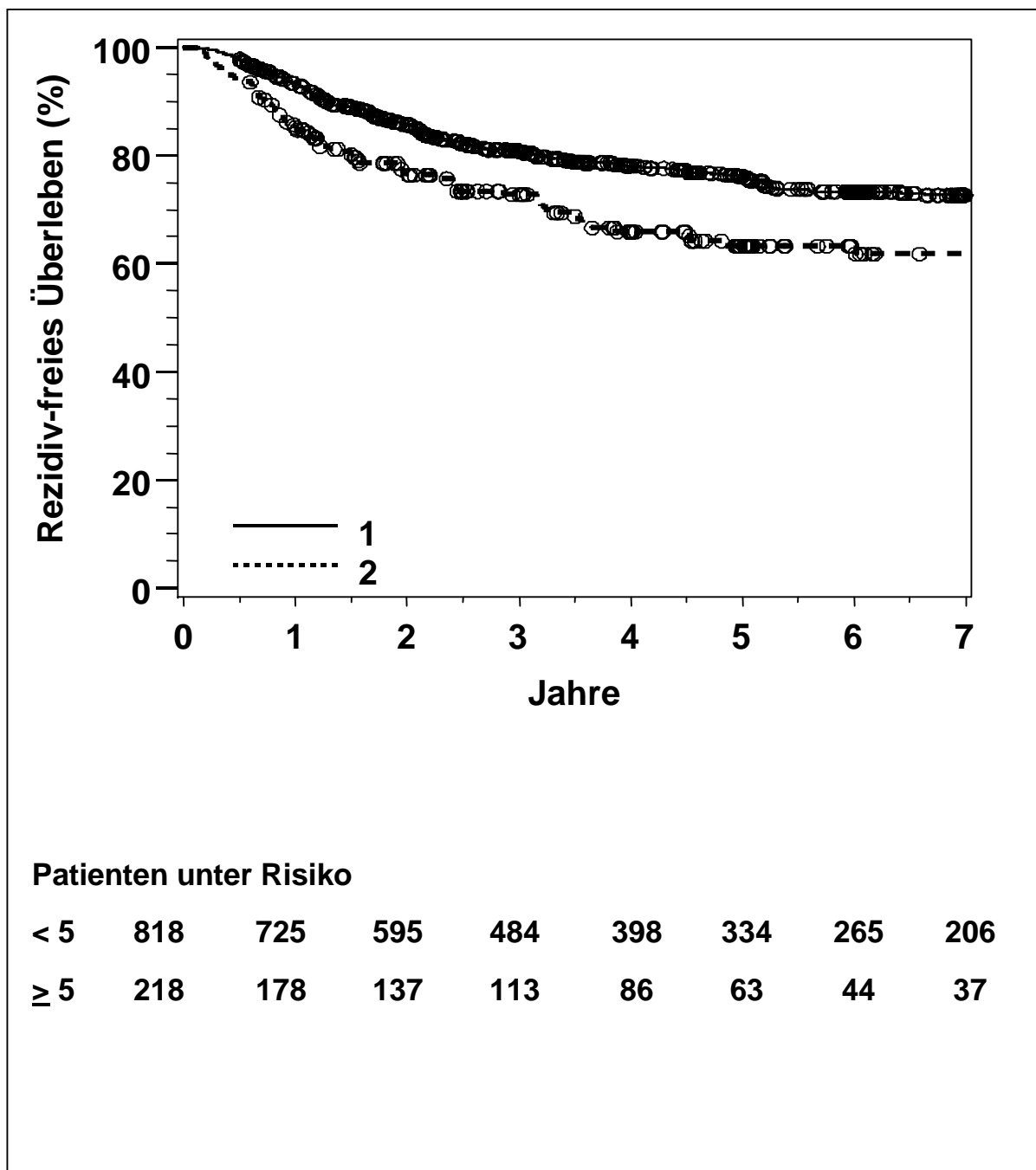


Abbildung 18: Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich der präoperativen CEA-Werte. 1: CEA < 5 ng/ml; 2: CEA ≥ 5 ng/ml. N=1036, p<0.001.

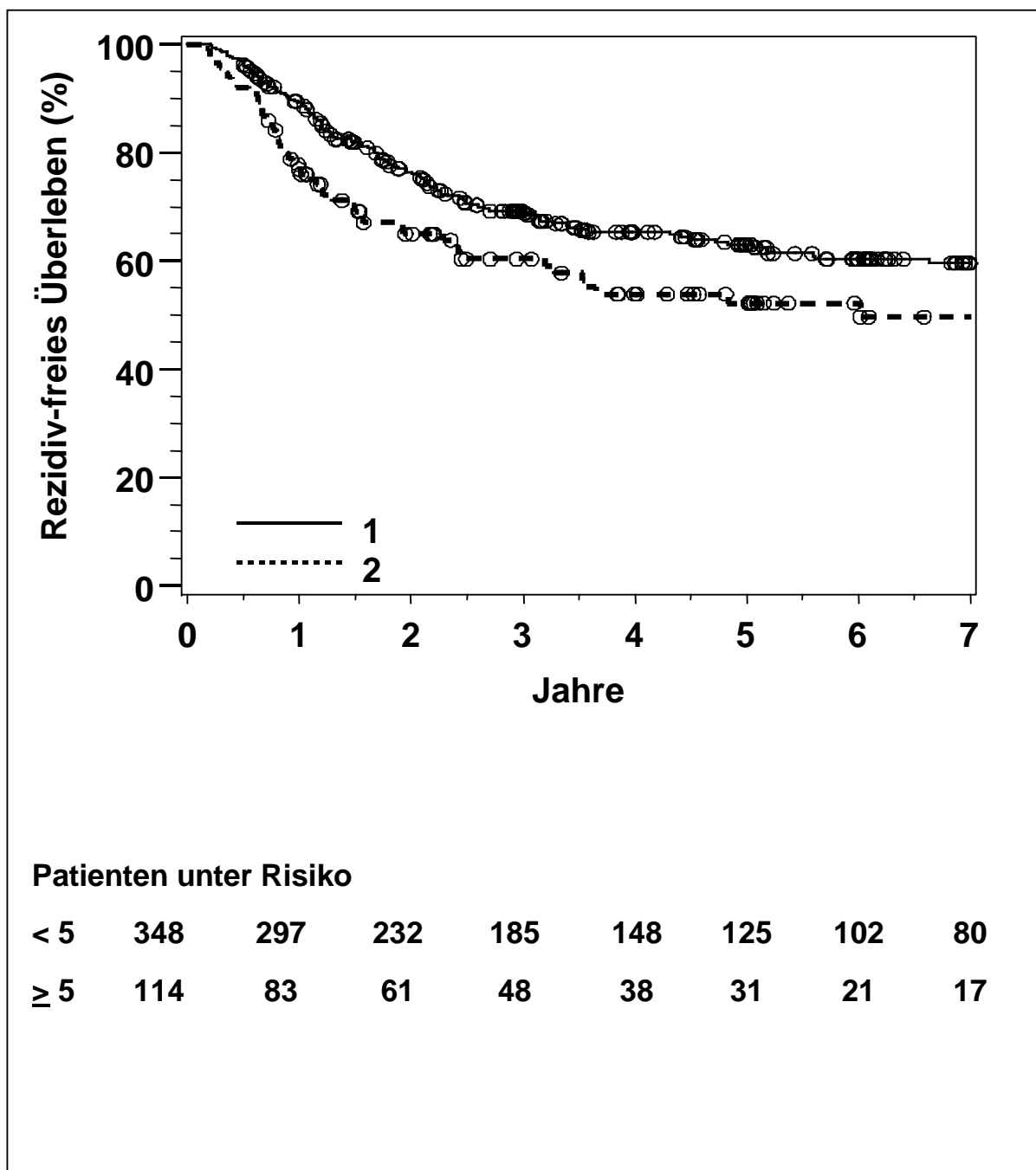


Abbildung 19: Ungünstige Prognosegruppe. Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich der präoperativen CEA-Werte. 1: CEA < 5 ng/ml; 2: CEA ≥ 5 ng/ml. N=462, p=0.020.

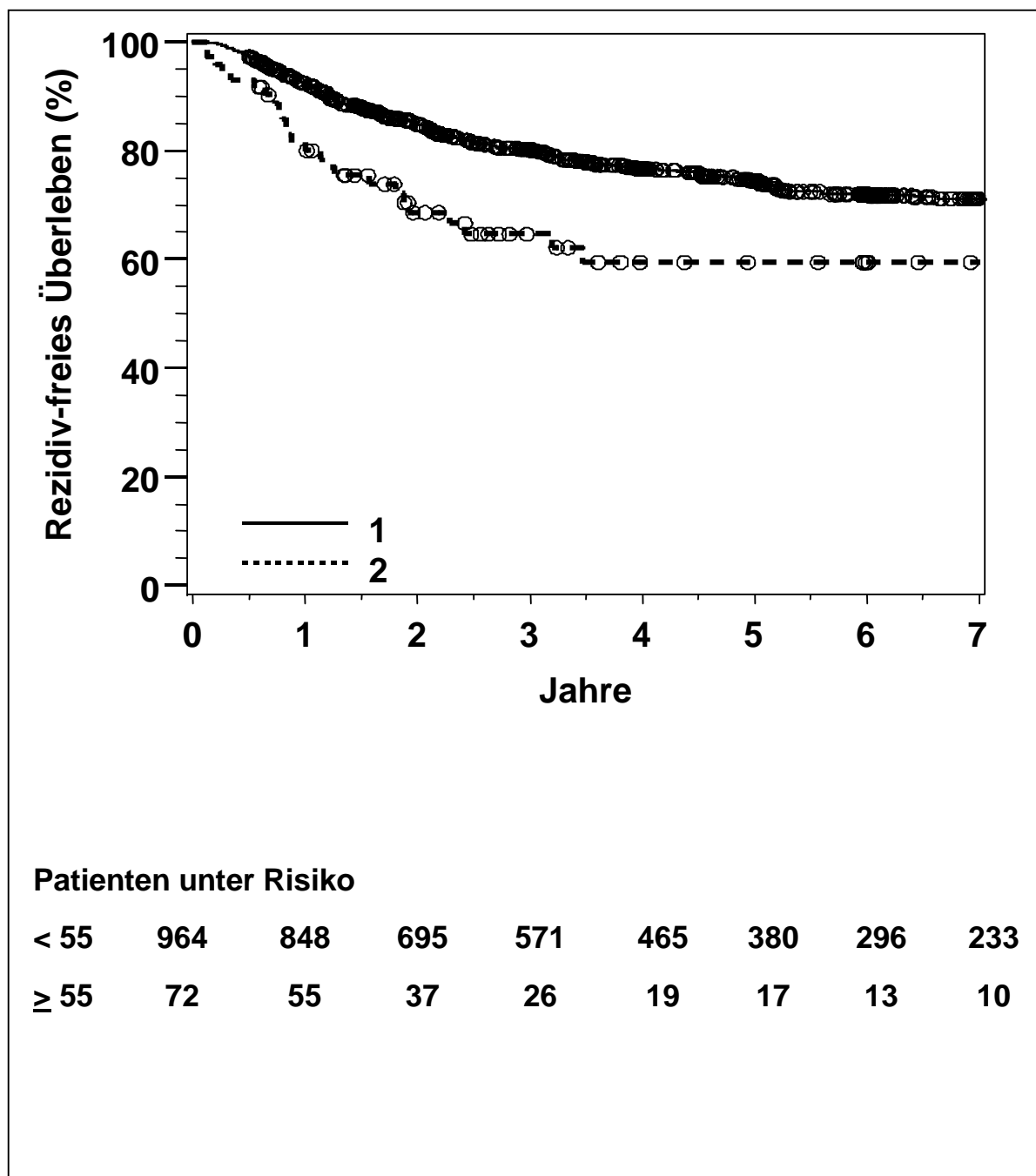


Abbildung 20: Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich der präoperativen CA 19-9-Werte. 1: CA 19-9 < 55 U/ml; 2: CA 19-9 \geq 55 U/ml. N=1036, p=0.004.

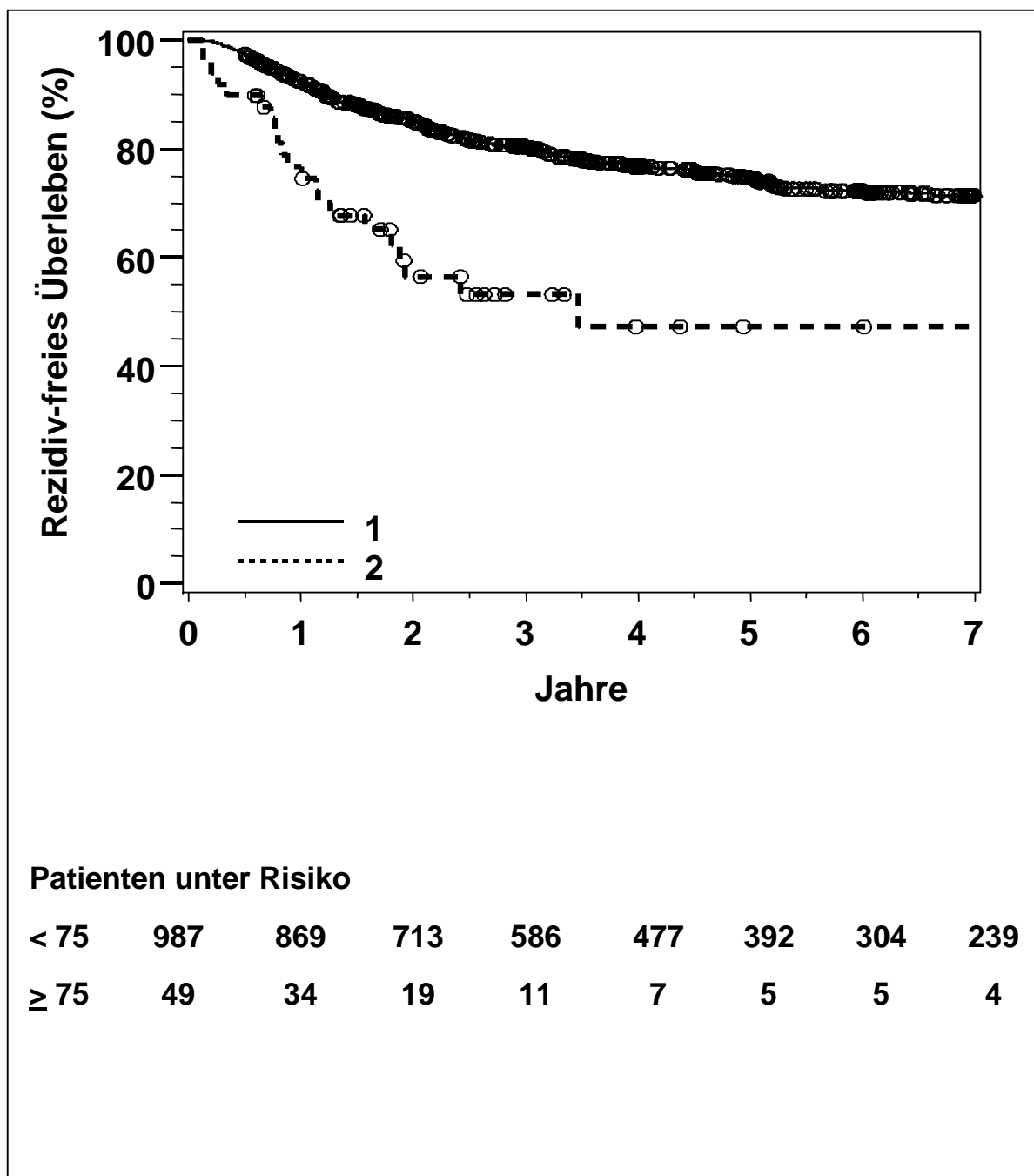


Abbildung 21: Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich der präoperativen CA 19-9-Werte. 1: CA 19-9 < 75 U/ml; 2: CA 19-9 ≥ 75 U/ml. N=1036, p<0.001.

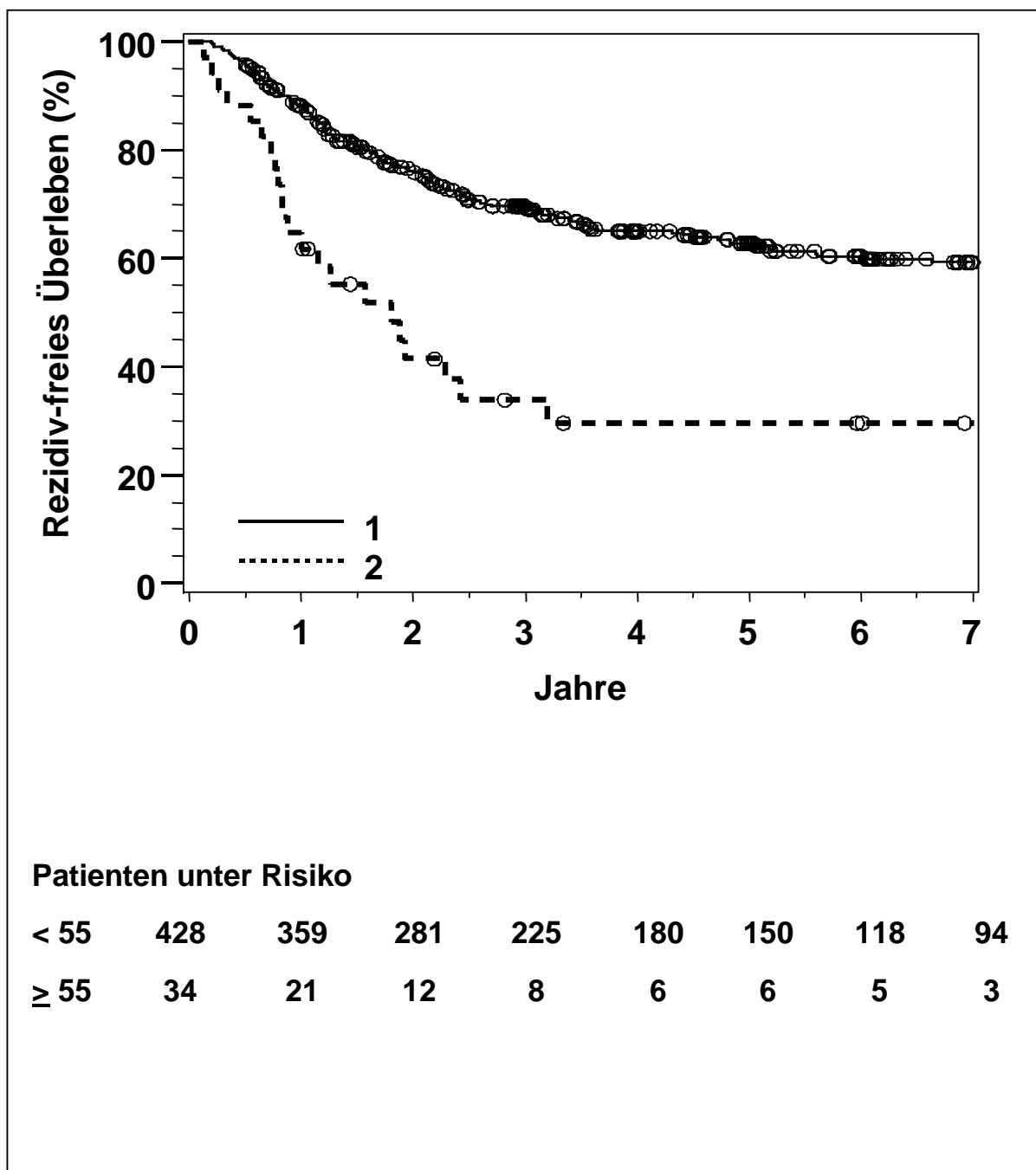


Abbildung 22: Ungünstige Prognosegruppe. Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich der präoperativen CA 19-9-Werte. 1: CA 19-9 < 55 U/ml; 2: CA 19-9 ≥ 55 U/ml. N=462, p<0.001.

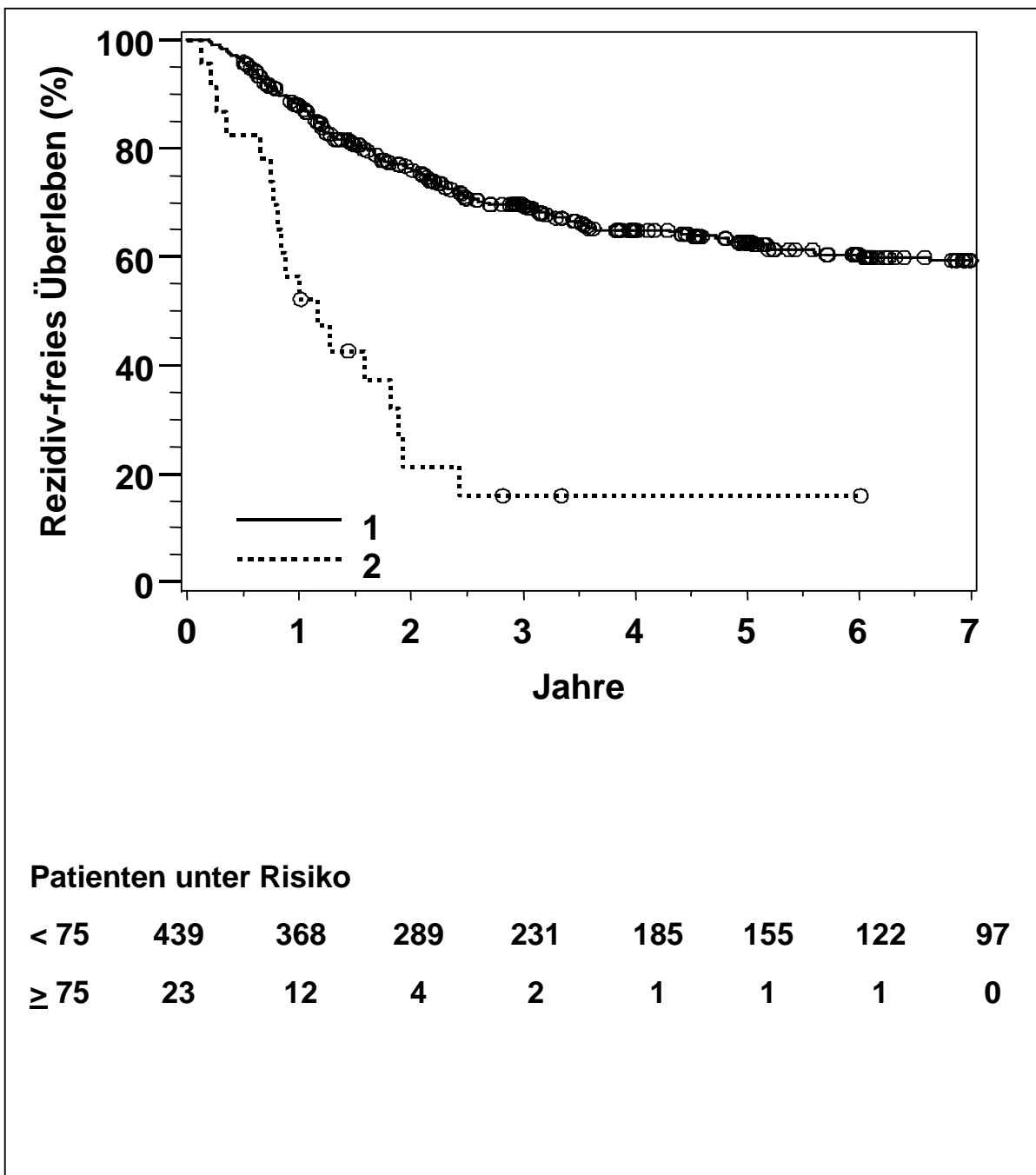


Abbildung 23: Ungünstige Prognosegruppe. Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich der präoperativen CA 19-9-Werte. 1: CA 19-9 < 75 U/ml; 2: CA 19-9 ≥ 75 U/ml. N=462, p<0.001.

3.1.2.2 Überleben

Prognosegruppe

Die Unterteilung in Prognosegruppen hatte einen signifikanten Einfluss auf das Überleben ($p < 0.001$, Tabelle 16). Die Kurve der ungünstigen Prognosegruppe divergierte nach etwa einem Jahr von der Kurve der günstigen Prognosegruppe. Nach fünf Jahren unterschied sich die Überlebensrate beider Gruppen um ca. 15% (Tabelle 16, Abbildung 24).

Alter

Das Alter der Patienten hatte in dieser Auswertung keinen Einfluss auf das Überleben (Tabelle 16).

Geschlecht

Hinsichtlich des Geschlechts zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der univariaten Analyse hinsichtlich der Überlebensrate (Tabelle 16).

Grading

Der Einfluss des Differenzierungsgrads des Tumors auf das Überleben erreichte knapp das Signifikanzniveau ($p = 0.039$, Tabelle 16). Die entsprechenden Kurven divergierten nur geringfügig. Nach 5 Jahren lag der Unterschied zwischen gut (G1+2) und schlecht differenzierten (G3+4) Tumoren hinsichtlich der Überlebensrate bei weniger als 10 Prozent (Tabelle 16, Abbildung 25).

Das Grading war innerhalb der Prognosegruppen nicht signifikant (Tabelle 17).

Lokalisation

Ein im Rektum lokalisierter Tumor war mit einem signifikant schlechteren Überleben assoziiert als ein Kolontumor ($p = 0.013$, Tabelle 16). Der Einfluss der Lokalisation war allerdings weniger stark ausgeprägt als der Einfluss der Lokalisation auf des rezidivfreie Überleben ($p < 0.001$).

Die entsprechenden Kaplan-Meier-Kurven überlagerten sich vollständig in den ersten 4 Jahren. Erst ab diesem Zeitpunkt lässt sich eine zunehmende Kurvendivergenz erkennen (Abbildung 26).

Die Lokalisation des Tumors blieb nach Unterteilung in Prognosegruppen nicht signifikant (Tabelle 17).

Tumordinfiltrationstiefe

Die Tumordinfiltrationstiefe war ein hochsignifikanter Prediktor in der univariaten Analyse des Überlebens ($p < 0.001$, Tabelle 16).

Die Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben in Abhängigkeit des T-Stadiums trennten sich nach etwa einem halben Jahr auf. Nach 5-Jahren lebten noch ca. 95% der Patienten mit einem T1-Tumor. Patienten mit einem T4-Tumor hatten ähnlich wie bei der Analyse der Rezidivierung mit ca. 65% nach 5 Jahren die schlechteste Überlebensrate. Die Kurven der T1-T3 Tumoren divergierten hinsichtlich der Überlebensrate in den ersten 3 Jahren gering. Ab dem 5. Jahr nach der Primärtherapie zeigten sich Differenzen von 5-10% hinsichtlich der Überlebensrate (Abbildung 27).

Aufgeschlüsselt nach Prognosegruppen blieb die Tumordinfiltrationstiefe sowohl bei der GPG als auch bei der UPG signifikant ($p = 0.006$ und $p < 0.001$, Tabelle 17).

Lymphknotenstatus

Analog zur Analyse des rezidivfreien Überlebens zeigte sich ein hochsignifikanter Zusammenhang zwischen der Anzahl der befallenen Lymphknoten und dem Überleben ($p < 0.001$, Tabelle 16).

Die resultierenden Kurven begannen im Unterschied zum rezidivfreien Überleben allerdings erst nach einem Jahr zu divergieren. N0 und N1-Tumoren zeigten eine Überlebensrate von 90% bzw. 80% nach 5 Jahren, die Überlebenskurven verliefen homolog. Nahezu die Hälfte der Patienten mit N2-Tumoren verstarb tumorbedingt innerhalb der ersten 5 Jahre nach der Primärtherapie (Abbildung 28).

Innerhalb der ungünstigen Prognosegruppe blieb der Einfluss des Lymphknotenstadiums signifikant ($p < 0.001$, Tabelle 17).

CEA

Patienten mit Werten oberhalb des cut-offs hatten ein signifikant schlechteres Überleben als Patienten unterhalb ($p = 0.010$, Tabelle 16). Hinsichtlich der entsprechenden Überlebenskurven ließ sich nach etwa 2 Jahren eine geringe Divergenz erkennen, die im Verlauf minimal zunahm, aber im Vergleich zum rezidivfreien Überleben weniger stark ausgeprägt war.

Die Überlebensraten der beiden Gruppen oberhalb und unterhalb des cut-offs unterschieden sich nach 5 Jahren um etwa 10 Prozent (Abbildung 29).

Bei der getrennten Auswertung nach Prognosegruppen hatte CEA signifikanten Einfluss auf

das Überleben jedoch nur innerhalb der günstigen Prognosegruppe ($p=0.046$, Tabelle 17, Abbildung 30).

CA 19-9

Das CA 19-9 hatte bei einem Cut-Off-Wert von 55 und 75 U/ml einen signifikanten Einfluss auf das Überleben ($p<0.001$, Tabelle 16)

In der Kaplan-Meier-Analyse zeigte sich eine in den ersten beiden Jahren zunehmende Kurvendivergenz, die beim höheren Cut-Off-Wert noch deutlicher ausgeprägt war.

In diesem Zeitraum verstarben insgesamt ca. 20% bzw. 25% der Patienten tumorbedingt.

In den beiden Gruppen oberhalb und unterhalb des jeweiligen Cut-Off-Wertes lagen die 5-Jahres-Überlebensraten bei 65 und 85% beim niedrigeren bzw. bei 60 und 85% beim höheren Cut-Off-Wert (Abbildung 31, Abbildung 32).

Der Einfluss des CA 19-9 auf das Überleben blieb nach der Gruppierung nur in der ungünstigen Prognosegruppe signifikant (Tabelle 17, Abbildung 33, Abbildung 34).

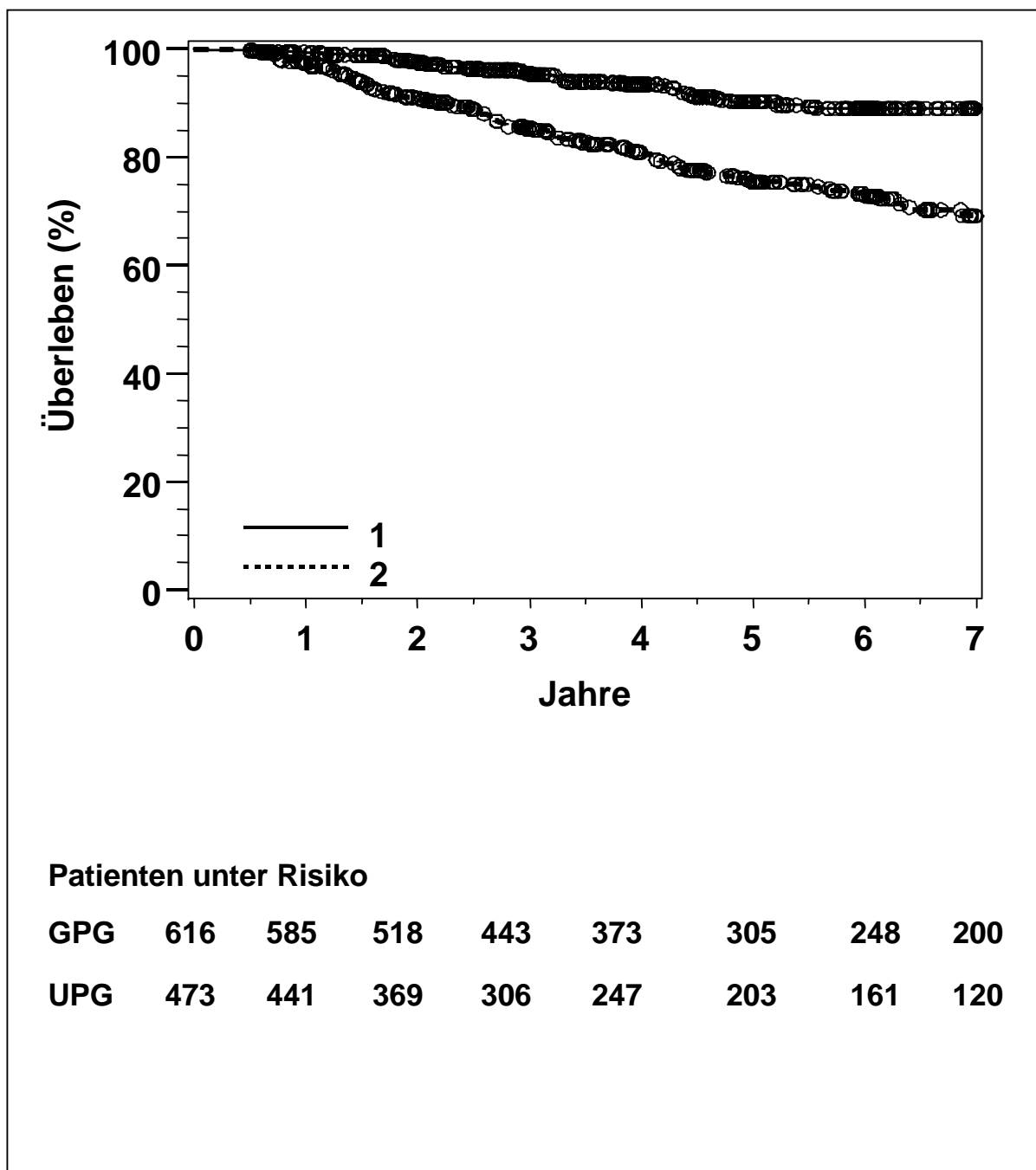


Abbildung 24: Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der Prognosegruppe. 1: günstige Prognosegruppe (GPG); 2: ungünstige Prognosegruppe (UPG). N=1089, $p < 0.001$.

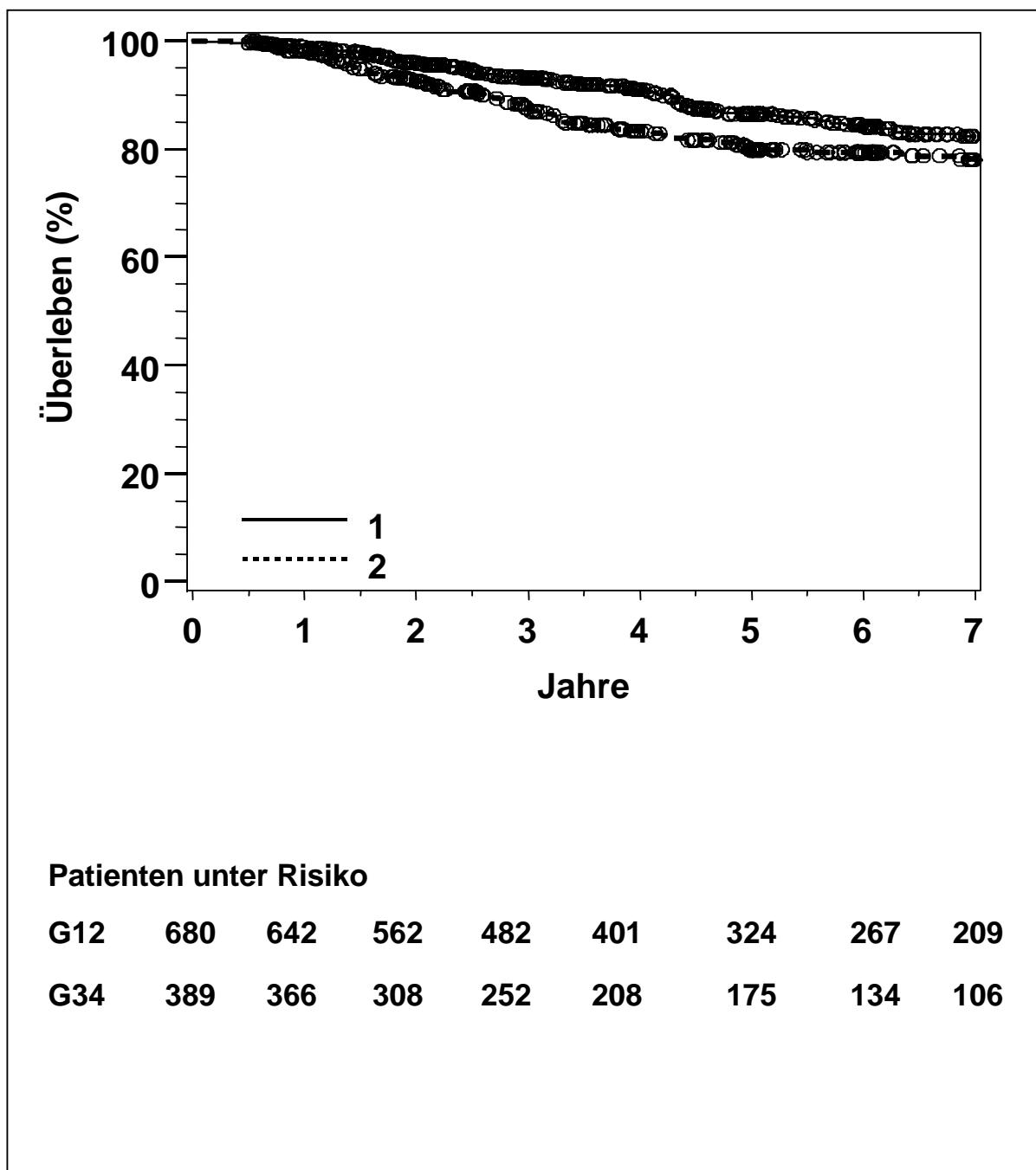


Abbildung 25: Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich des Gradings. 1: G1+G2; 2: G3+G4. N=1089, p=0.039.

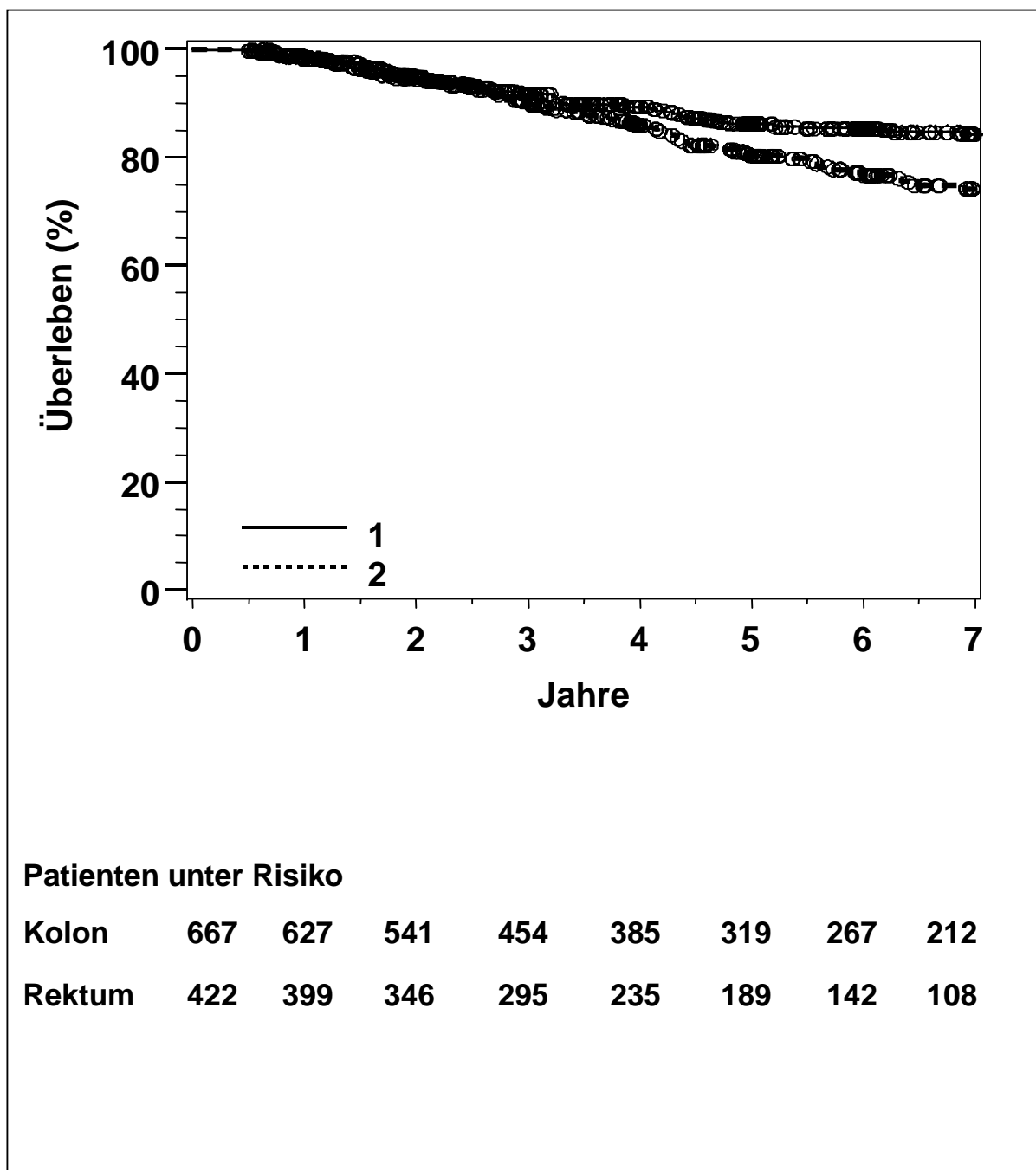


Abbildung 26: Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der Tumorlokalisation. 1: Kolon; 2: Rektum. N=1089, p=0.013.

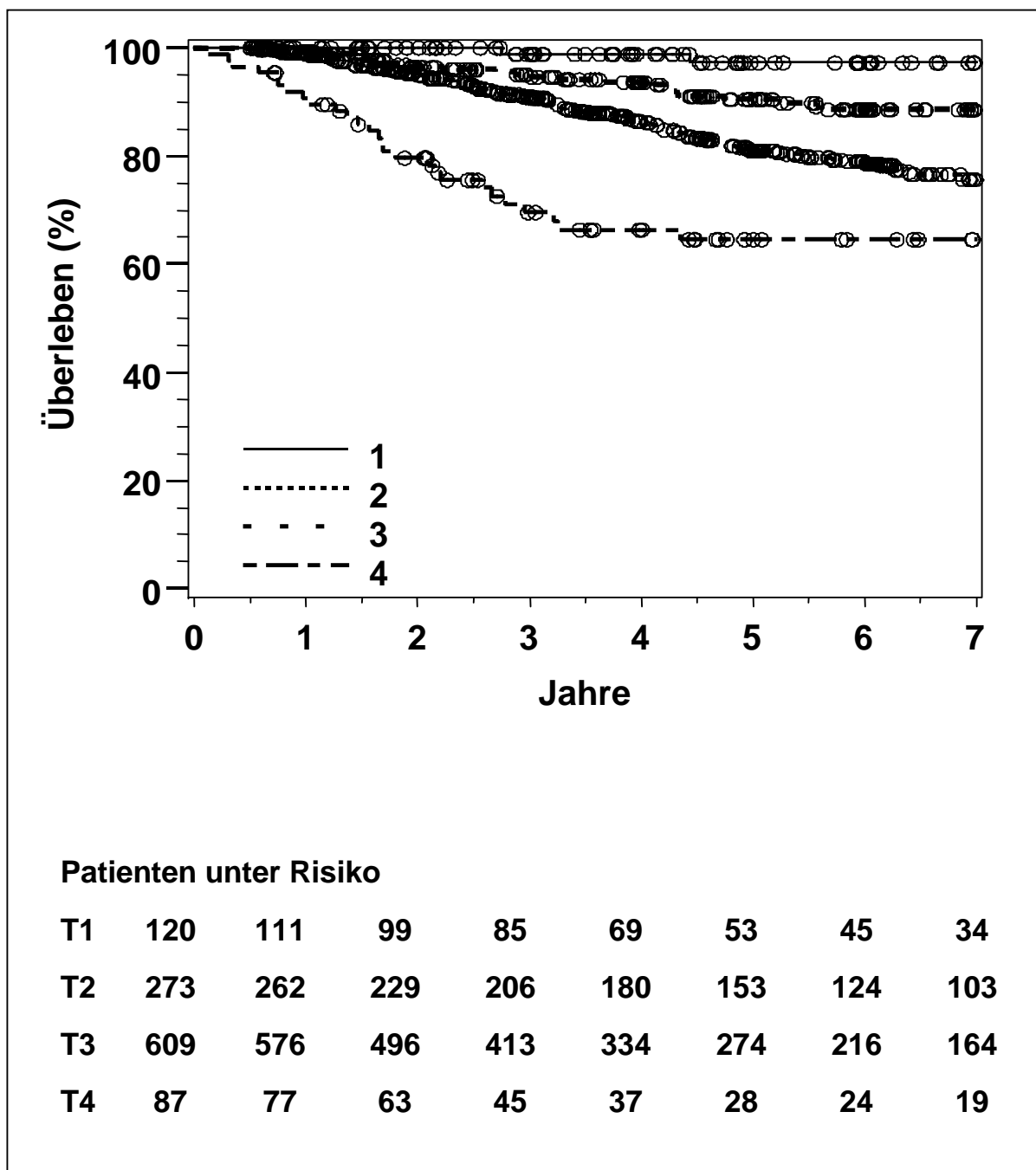


Abbildung 27: Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der Tumordinfiltrationstiefe.
1: T1; 2: T2; 3: T3; 4: T4. N=1089, $p < 0.001$.

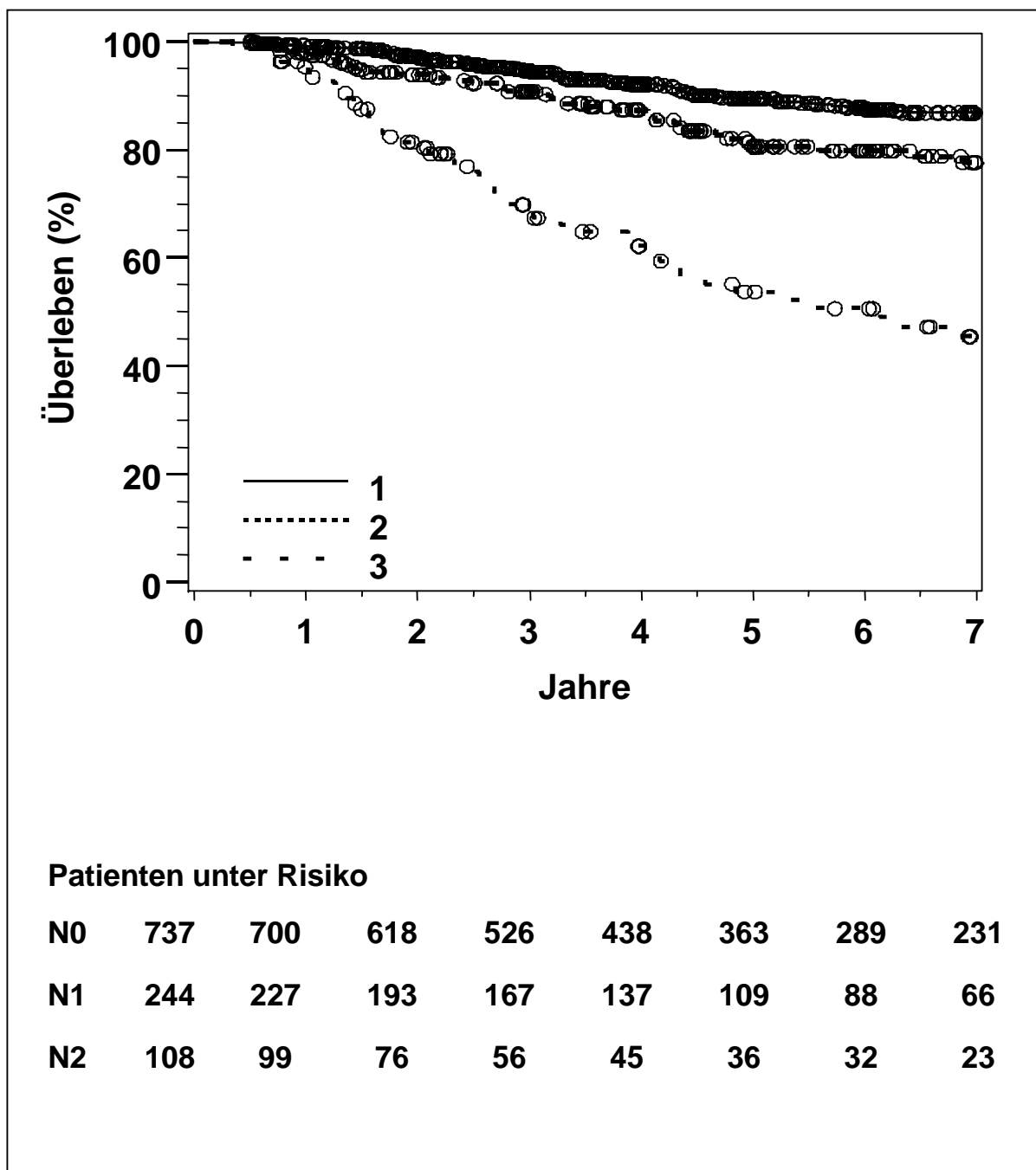


Abbildung 28: Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich des Lymphknotenstatus. 1: N0; 2: N1; 3: N2. N=1089, $p < 0.001$.

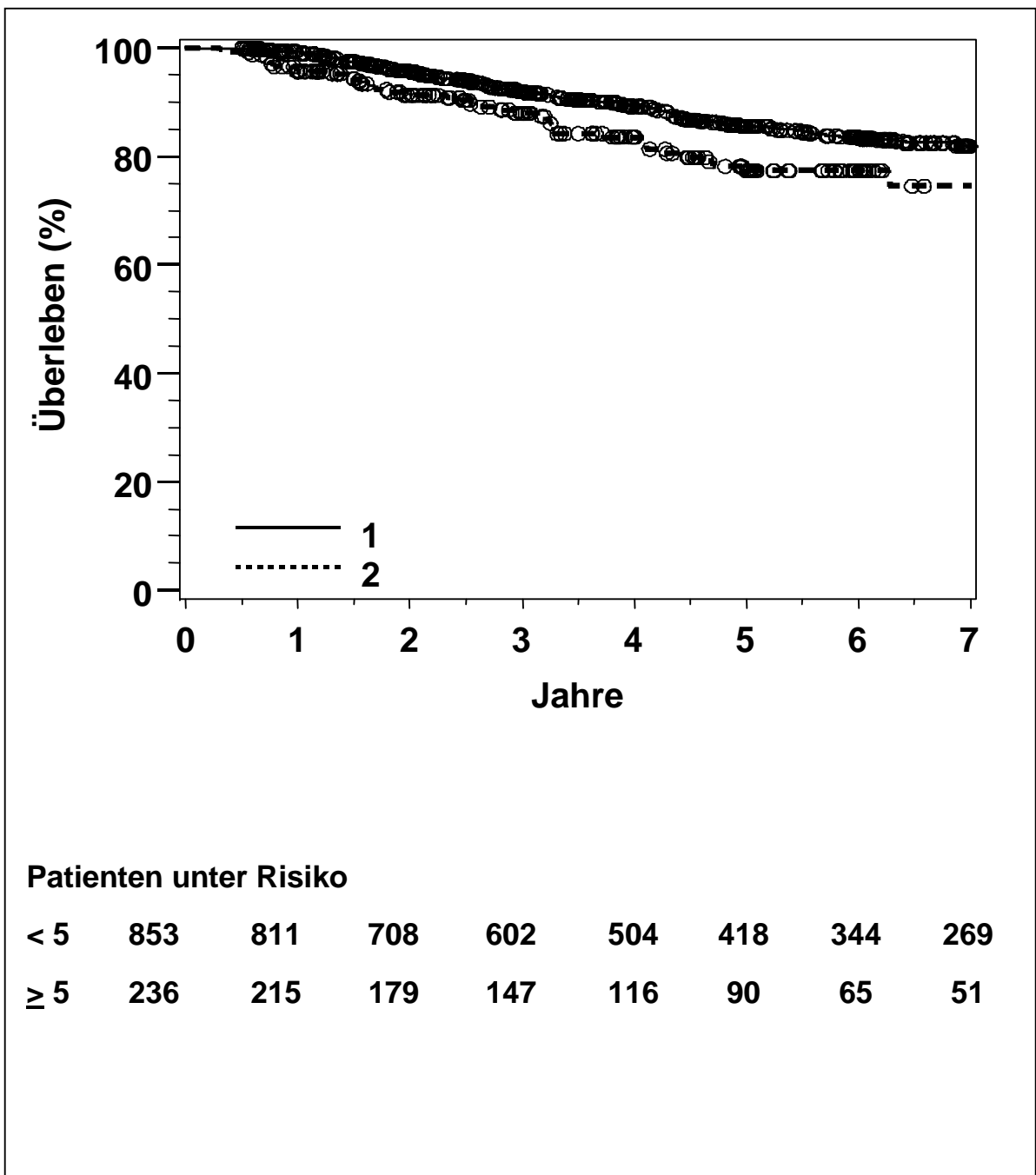


Abbildung 29: Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der präoperativen CEA-Werte. 1: CEA < 5 ng/ml; 2: CEA \geq 5 ng/ml. N=1089, p=0.010.

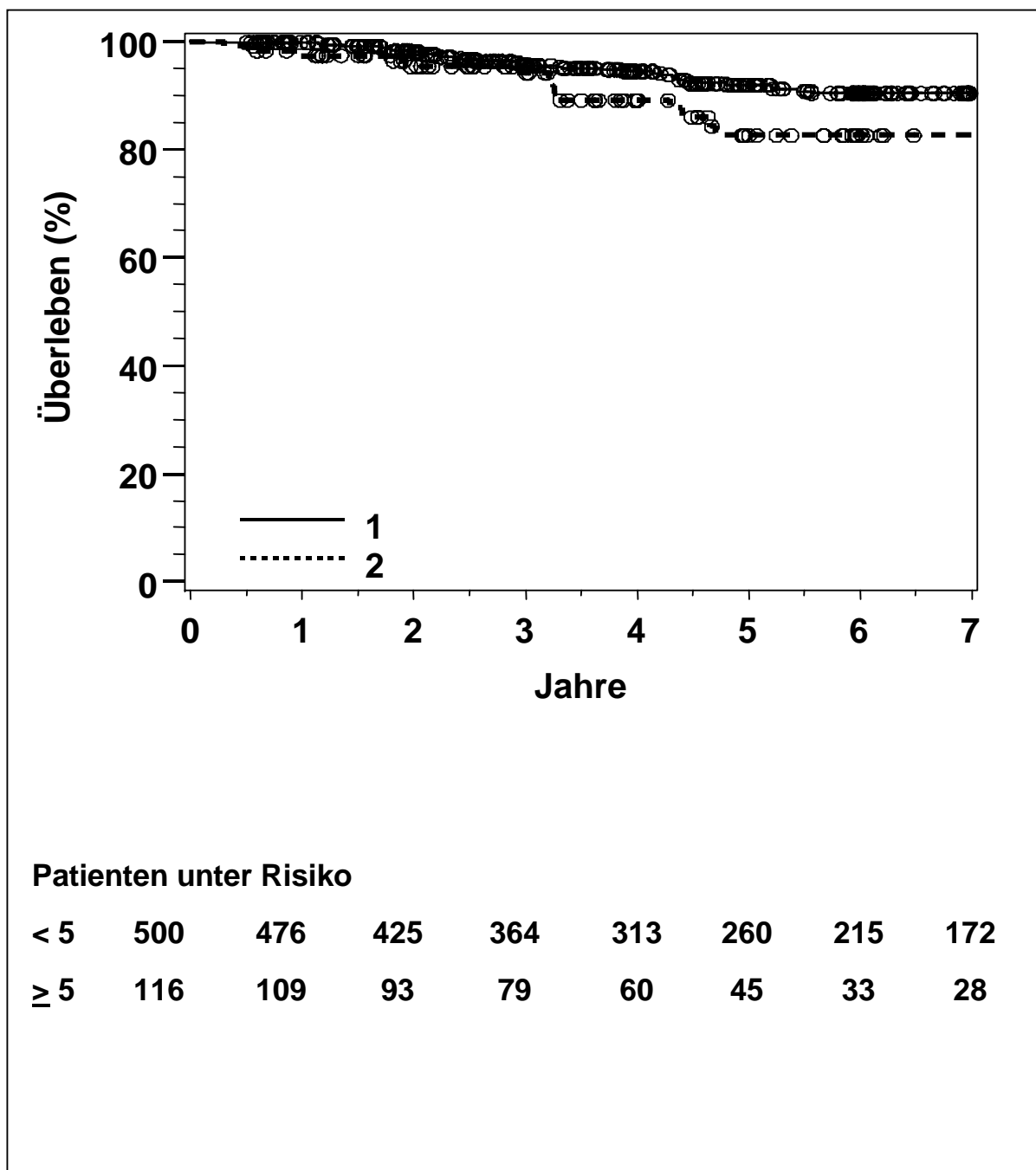


Abbildung 30: Günstige Prognosegruppe. Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der präoperativen CEA-Werte. 1: CEA < 5 ng/ml; 2: CEA ≥ 5 ng/ml. N=616, p=0.046.

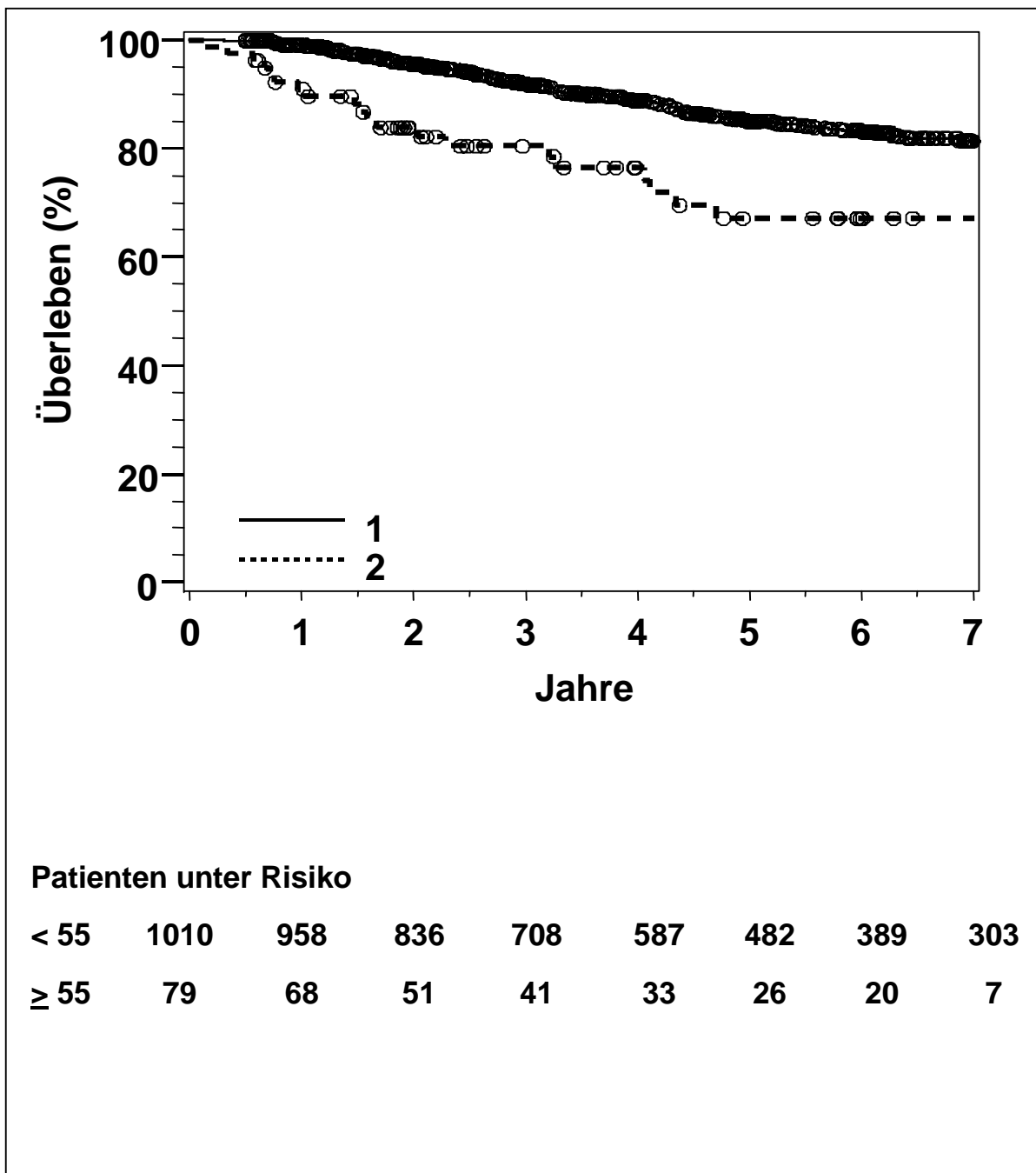


Abbildung 31: Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der präoperativen CA 19-9-Werte. 1: CA 19-9 < 55 U/ml; 2: CA 19-9 ≥ 55 U/ml. N=1089, p<0.001.

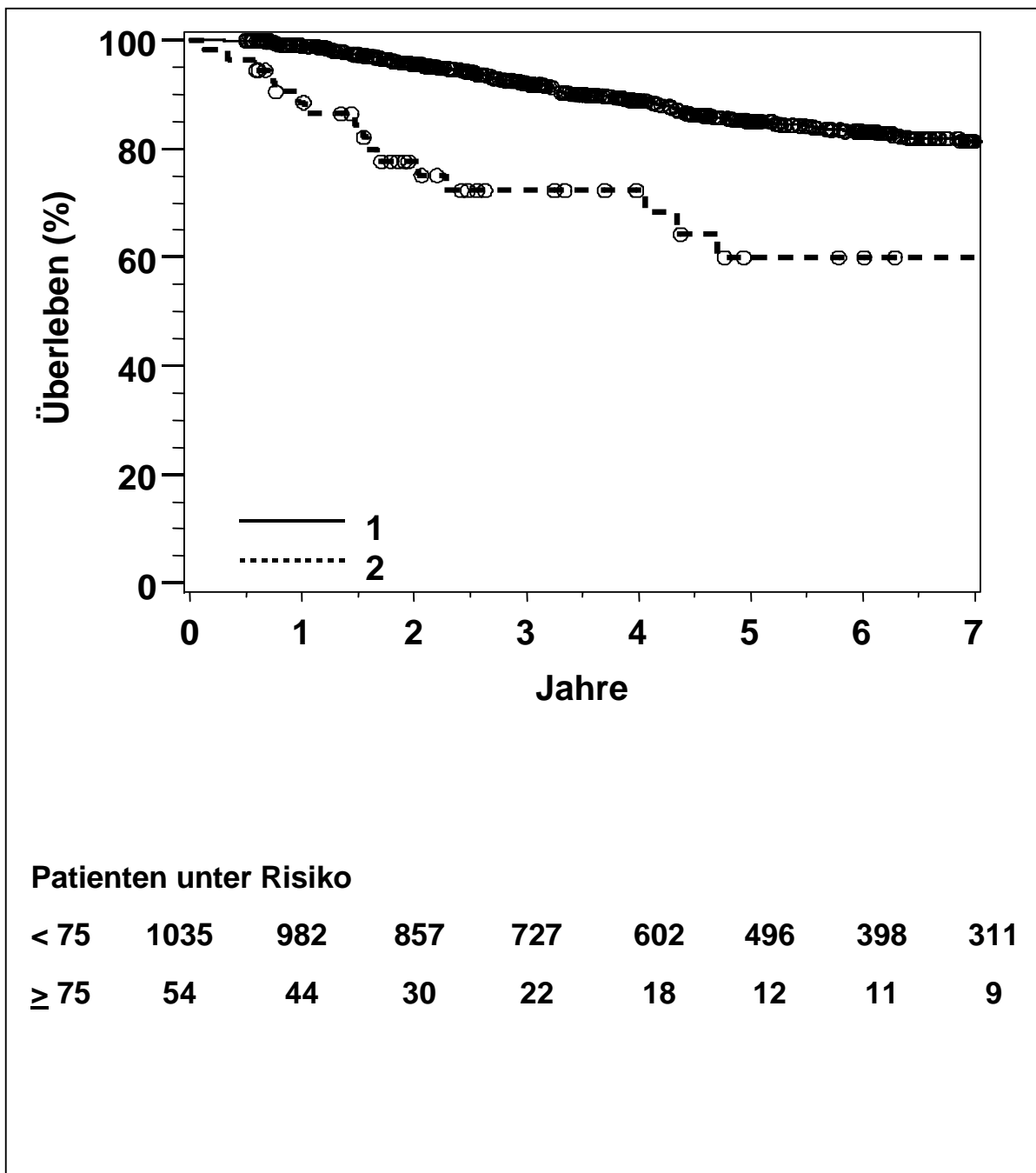


Abbildung 32: Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der präoperativen CA 19-9-Werte. 1: CA 19-9 < 75 U/ml; 2: CA 19-9 ≥ 75 U/ml. N=1089, p<0.001.

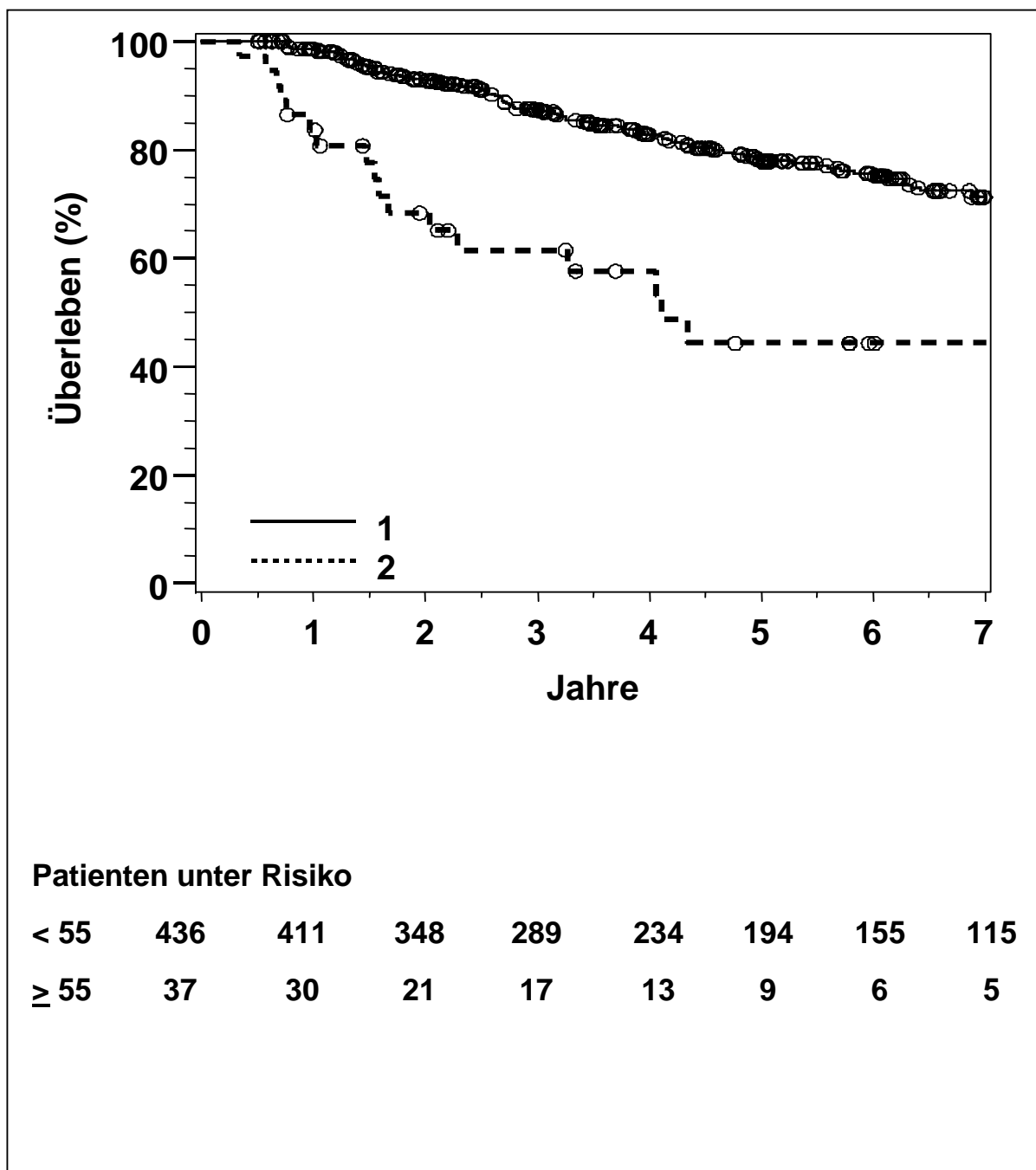


Abbildung 33: Ungünstige Prognosegruppe. Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der präoperativen CA 19-9-Werte. 1: CA 19-9 < 55 U/ml; 2: CA 19-9 ≥ 55 U/ml. N=473, p<0.001.

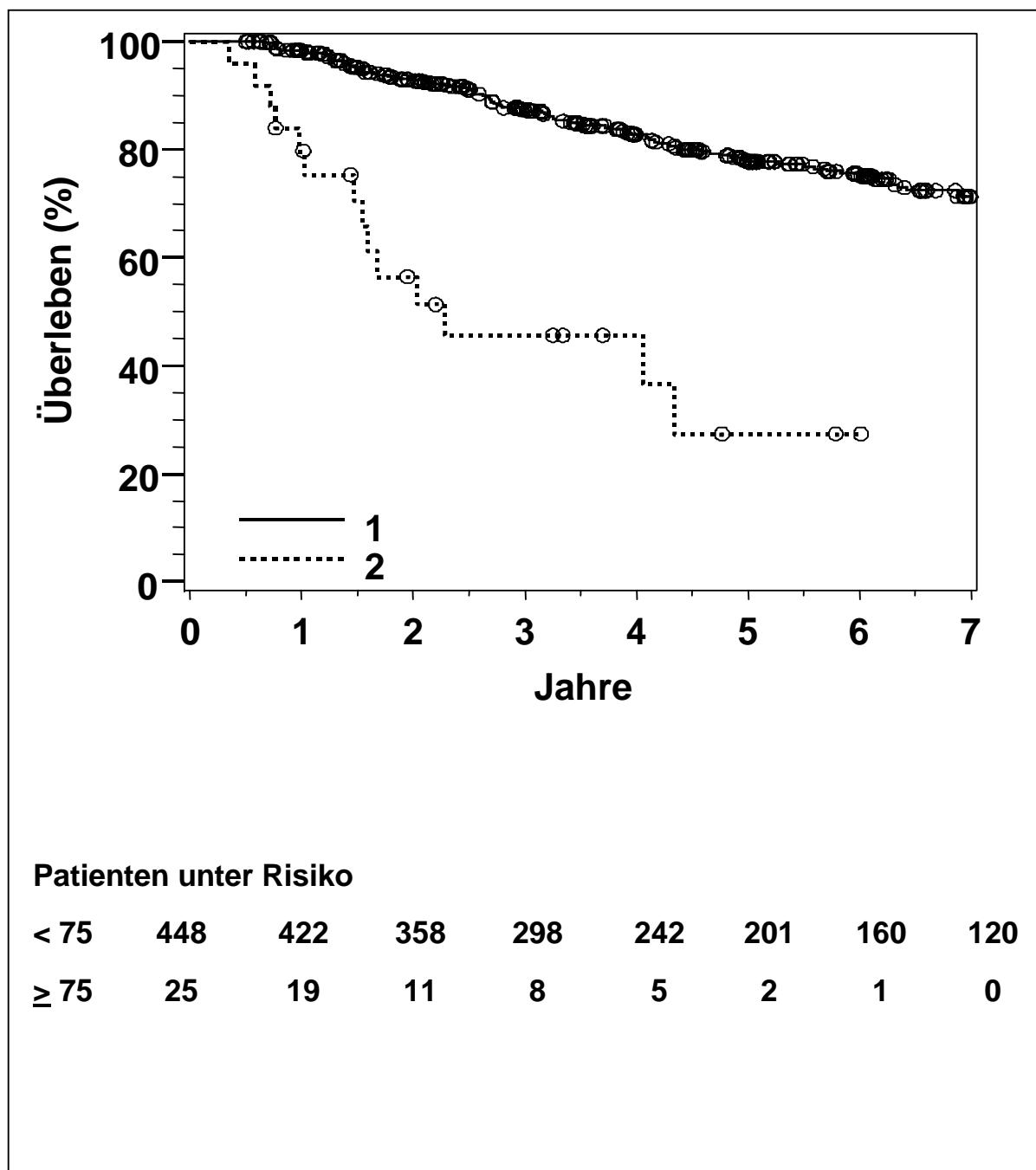


Abbildung 34: Ungünstige Prognosegruppe. Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der präoperativen CA 19-9-Werte. 1: CA 19-9 < 75 U/ml; 2: CA 19-9 ≥ 75 U/ml. N=473, p<0.001.

3.1.3 Multivariate Analyse

Alle Parameter, die in der univariaten Analyse Signifikanz gezeigt hatten, wurden multivariat im Cox-Regressions-Modell auf ihre Unabhängigkeit von anderen Faktoren überprüft (Cox, 1972). Die Auswertung erfolgte getrennt nach Prognosegruppen.

Es wurde außerdem untersucht, welche Tumormarker in einer Untergruppe der Patienten mit Kolonkarzinomen ohne Lymphknotenbefall (Untergruppe der günstigen Prognosegruppe) prognostisch relevant war.

3.1.3.1 Rezidivierung

Signifikante, unabhängige Prognosefaktoren hinsichtlich Rezidivierung waren innerhalb der günstigen Prognosegruppe die Tumordinfiltrationstiefe und CEA als logarithmierte Variable (Tabelle 18).

Innerhalb der ungünstigen Prognosegruppe erreichten folgende Parameter Signifikanz (Tabelle 19):

- Lokalisation
- Tumordinfiltrationstiefe
- Lymphknotenstatus
- CA 19-9

Der Einfluss des CA 19-9 auf die Rezidivierung war bei einem Cut-off von 75 U/ml geringfügig stärker ausgeprägt, als beim Cut-off 55 U/ml. Allerdings ist die klinische Relevanz aufgrund des niedrigen Anteils (5.5%) an Patienten mit CA 19-9-Werten oberhalb dieses Cut-offs limitiert.

Wurden nur Patienten mit Kolonkarzinom Stadium I und II berücksichtigt, war neben der Tumordinfiltrationstiefe, CEA ein unabhängiger Prädiktor für das rezidivfreie Überleben (Tabelle 20).

3.1.3.2 Überleben

In der univariaten Analyse des Überlebens erreichten die gleichen Parameter Signifikanz wie bei der Auswertung der Rezidivierung und wurden multivariat auf eine gegenseitige Abhängigkeit analysiert.

Innerhalb der günstigen Prognosegruppe blieb die Tumordinfiltrationstiefe der einzige signifikant unabhängige Prognosefaktor. CEA erreichte hier keine Signifikanz (Tabelle 18). In der Auswertung des Überlebens innerhalb der ungünstigen Prognosegruppe waren vergleichbar zur Auswertung der Rezidivierung die Parameter Lokalisation, Tumordinfiltrationstiefe, Lymphknotenstatus und CA 19-9 unabhängige Prognosefaktoren (Tabelle 19).

Tabelle 18: Prognosefaktoren bei Patienten mit kolorektalen Karzinomen zum Zeitpunkt der Primärtherapie. Multivariate Analyse des rezidivfreien Überlebens und des Überlebens in der günstigen Prognosegruppe.

GPG				
Prognosefaktor	β-Koeffizient	HR	95% KI	p
DFS				
T (T2 vs. T1; T3 vs. T2; T4 vs. T3)	0.48683	1.63	1.24 – 2.14	0.0005
Log (CEA)	0.20805	1.23	1.00 – 1.52	0.0499
OTS				
T (T2 vs. T1; T3 vs. T2; T4 vs. T3)	0.60139	1.83	1.29 – 2.57	0.0006

GPG= Günstige Prognosegruppe, HR= Hazard ratio, KI= Konfidenzintervall, DFS= rezidivfreies Überleben, OTS= tumorbedingtes Versterben

Tabelle 19: Prognosefaktoren bei Patienten mit kolorektalen Karzinomen zum Zeitpunkt der Primärtherapie. Multivariate Analyse des rezidivfreien Überlebens und des Überlebens in der ungünstigen Prognosegruppe.

UPG				
Prognosefaktor	β -Koeffizient	HR	95% KI	p
DFS				
Rektum vs. Kolon	0.53604	1.71	1.23 – 2.37	0.0013
T (T2 vs. T1; T3 vs. T2; T4 vs. T3)	0.68973	1.99	1.45 – 2.75	<0.0001
N2 vs. N0+N1	1.06003	2.89	2.09 – 3.98	<0.0001
Log (CEA)	0.10866	1.12	0.98 – 1.27	NS
CA 19-9 (< vs. \geq 55 U/ml)	0.60638	1.83	1.11 – 3.03	0.0176
OTS				
Rektum vs. Kolon	0.46299	1.59	1.05 – 2.40	0.0270
T (T2 vs. T1; T3 vs. T2; T4 vs. T3)	0.65837	1.93	1.27 – 2.93	0.0020
N2 vs. N0+N1	1.19150	3.30	2.20 – 4.92	<0.001
Log (CEA)	0.10887	1.12	0.94 – 1.32	NS
CA 19-9 (< vs. \geq 55 U/ml)	0.85771	2.36	1.31 – 4.25	0.0043

UPG= Ungünstige Prognosegruppe, HR= Hazard ratio, KI= Konfidenzintervall, DFS= rezidivfreies Überleben, OTS= tumorbedingtes Versterben, NS= Nicht signifikant

Tabelle 20: Prognosefaktoren bei Patienten mit Kolonkarzinom ohne Lymphknotenbefall (UICC I+II). Multivariate Analyse des rezidivfreien Überlebens.

UICC I+II				
Prognosefaktor	β -Koeffizient	HR	95% KI	p
T (T2 vs. T1; T3 vs. T2; T4 vs. T3)	0.47851	1.61	1.16 – 2.25	0.0048
Log (CEA)	0.24395	1.28	1.03 – 1.59	0.0294

HR= Hazard ratio, KI= Konfidenzintervall

3.1.4 Prognose-Index

Für das Kollektiv I wurde ein Prognose-Modell entwickelt, in das alle unabhängigen Prognosefaktoren integriert wurden und das innerhalb beider Prognosegruppen eine vereinfachte Risikostratifizierung ermöglichte.

Vor der Errechnung eines Prognose-Indexes wurde der Einfluss einzelner Patienten auf die β -Koeffizienten des Cox-Modells überprüft. Die Abbildung 35 veranschaulicht, dass sich innerhalb der ungünstigen Prognosegruppe ein Patient befand, der die multivariate Analyse hinsichtlich des β -Koeffizienten sowohl für CEA, als auch für die anderen Parameter (Abbildung 36) sehr viel stärker beeinflusste, als dies bei anderen Patienten der Fall war.

Da es sich bei dem Prognose-Index um eine mögliche Modellanwendung der Ergebnisse der multivariaten Analyse handelt, wurde dieser Patient ausgeschlossen. Die Ergebnisse nach Ausschluss des Patienten können der Tabelle 21 entnommen werden.

Tabelle 21: Prognosefaktoren bei Patienten mit kolorektalen Karzinomen zum Zeitpunkt der Primärtherapie. Multivariate Analyse des rezidivfreien Überlebens in der ungünstigen Prognosegruppe.

UPG				
Prognosefaktor	β -Koeffizient	HR	95% KI	p
DFS				
Rektum vs. Kolon	0.53604 (0.55604) ¹	1.71 (1.20)	1.23 – 2.37	0.0013 (0.0084)
T	0.68973 (0.77945)	1.99 (2.18)	1.45 – 2.75	<0.0001 (<0.0001)
T2 vs. T1; T3 vs. T2; T4 vs. T3	1.06003 (1.01374)	2.89 (2.76)	2.09 – 3.98	<0.0001 (<0.0001)
N2 vs. N0+N1	0.10866 (0.18565)	1.12 (1.20)	0.98 – 1.27	NS (0.0084)
Log (CEA)	0.60638 (0.71801)	1.83 (2.10)	1.11 – 3.03	0.0176 (0.0030)

UPG= Ungünstige Prognosegruppe, HR= Hazard ratio, KI= Konfidenzintervall, DFS= rezidivfreies Überleben, ¹()= Im Prognose-Index berücksichtigte Ergebnisse, NS= Nicht signifikant

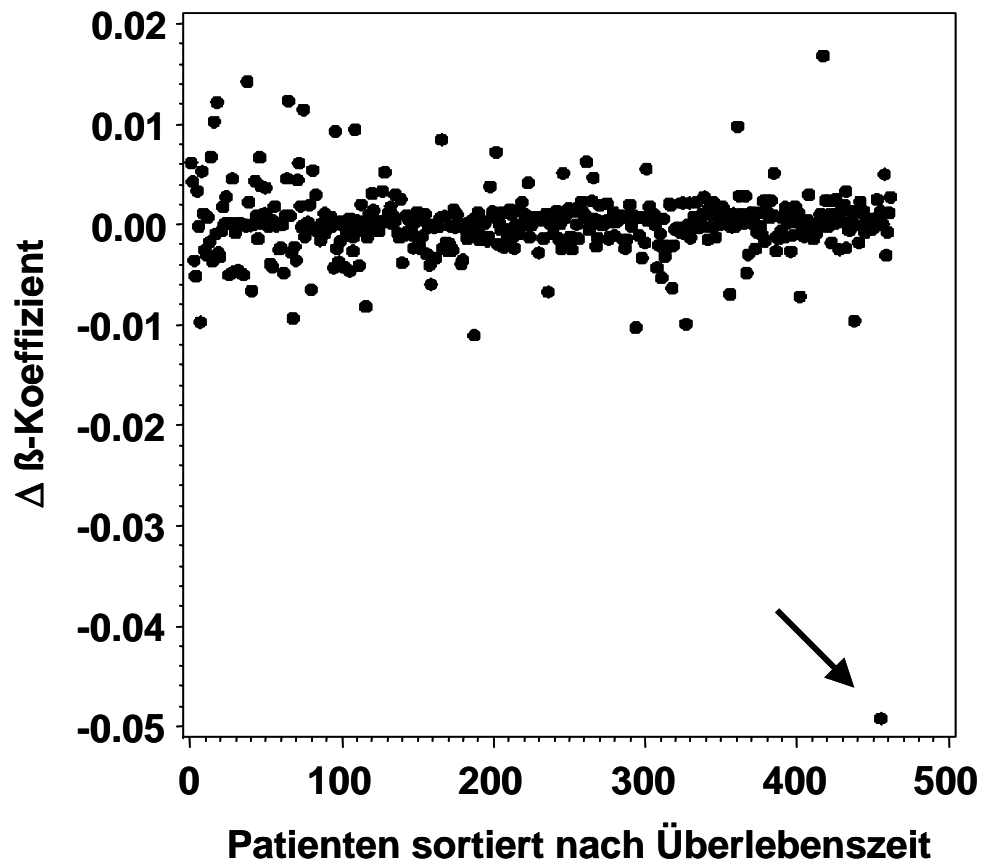


Abbildung 35: Einfluss einzelner Patienten auf den β -Koeffizient von CEA.

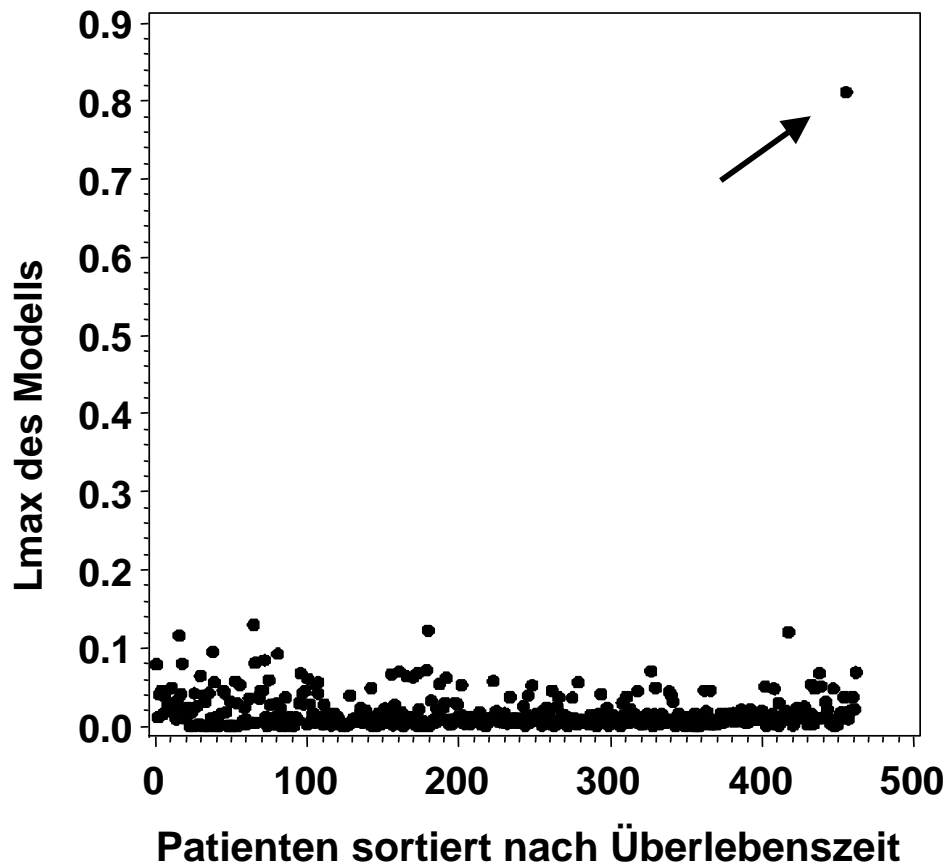


Abbildung 36: Einfluss einzelner Patienten auf das Cox-Modell bezüglich aller untersuchten Parameter.

Die Prognosefaktoren Lokalisation, Tumordinfiltrationstiefe, Lymphknotenstatus, Log (CEA) und CA 19-9 wurden kombiniert und sind für die Berechnung des Prognose-Indexes für das rezidivfreie Überleben innerhalb der günstigen und ungünstigen Prognosegruppe (ScGPG und ScUPG) berücksichtigt worden. Die einzelnen Scores wurden wie folgt berechnet:

$$\text{ScGPG} = 0.48683 + 0.20805 * \text{Log (CEA)}$$

$$\text{ScUPG} = 0.55604 (\text{Rektum}) + 0.77945 (\text{T}) + 1.01374 (\text{N2}) + 0.18565 * \text{Log (CEA)} + 0.71801 (\text{CA 19-9} > 55 \text{ U/ml})$$

Je höher der errechnete Prognose-Index, desto höher wurde auch das Risiko, an einem Rezidiv zu erkranken.

Die Patienten beider Prognosegruppen wurden anhand des jeweiligen Prognose-Indexes in annähernd gleiche Gruppen unterteilt (Tertile).

Die entsprechenden Kaplan-Meier-Kurven zeigten eine Kurven-Divergenz, die vor allem innerhalb der ungünstigen Prognosegruppe deutlich ausgeprägt war. Die Rezidivierungsrate der Gruppe 1 und 3 unterschied sich bereits nach einem Jahr um ca. 35% (Abbildung 38).

In der günstigen Prognosegruppe divergierten die Kaplan-Meier-Kurven geringer. Nach 5 Jahren waren noch ca. 75% der Patienten mit einem hohen Prognose-Index (Gruppe 3) gegenüber 95% der Patienten mit einem niedrigen Prognose-Index (Gruppe 1) rezidivfrei (Abbildung 37).

Wurden die Kurven beider Gruppen nicht getrennt dargestellt, so zeigte sich eine deutliche Überlappung der ursprünglichen Prognosegruppen (Abbildung 39).

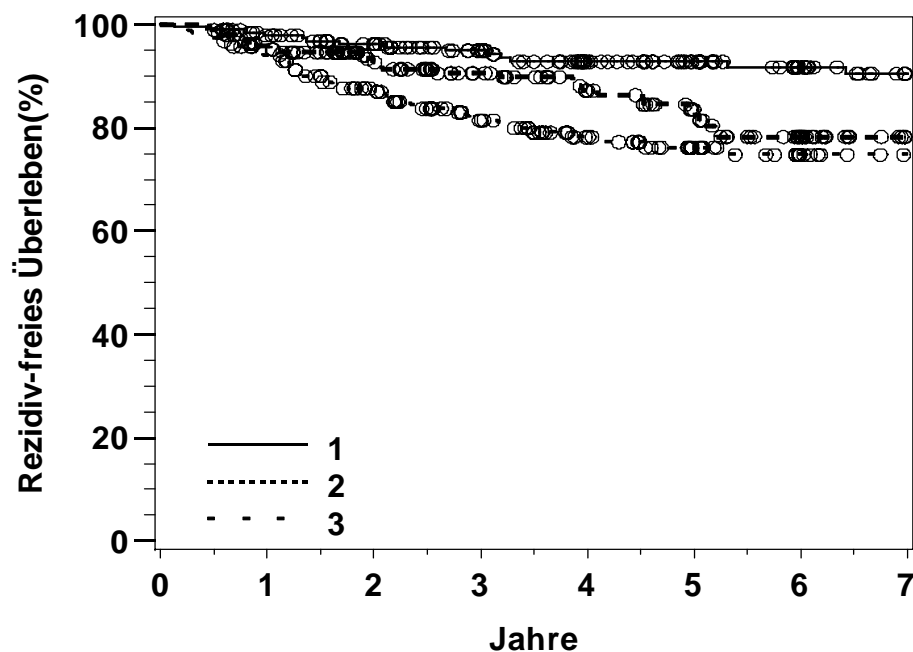


Abbildung 37: Kaplan-Meier Kurven für das rezidivfreie Überleben innerhalb der günstigen Prognosegruppe in Abhängigkeit vom Prognosescore. 1: 1.Tertile = Gruppe 1, 2: 2.Tertile = Gruppe 2, 3: 3.Tertile = Gruppe 3

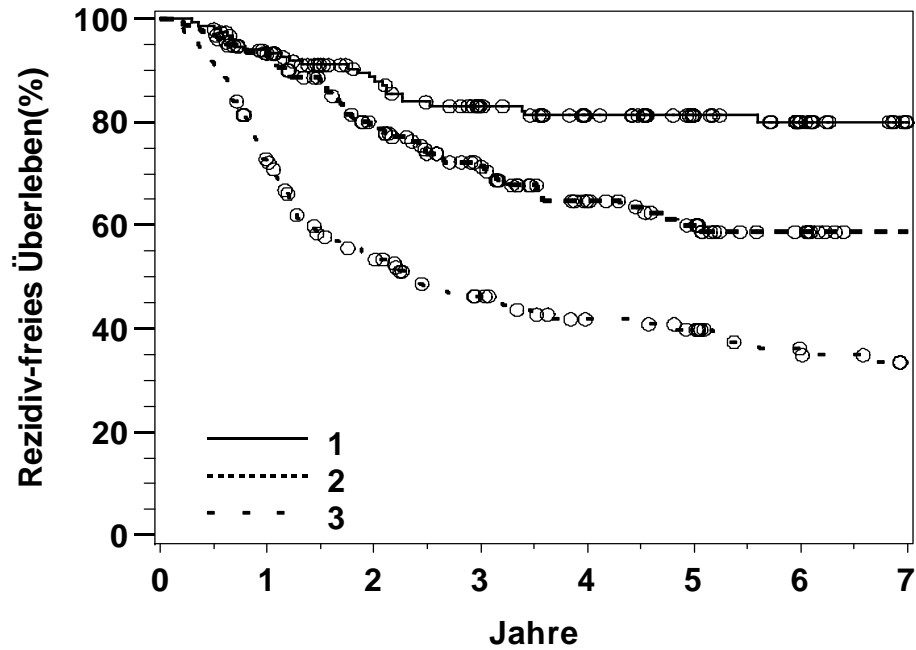


Abbildung 38: Kaplan-Meier Kurven für das rezidivfreie Überleben innerhalb der ungünstigen Prognosegruppe in Abhängigkeit vom Prognosescore. 1: 1.Tertile = Gruppe 1, 2: 2.Tertile = Gruppe 2, 3: 3.Tertile = Gruppe 3

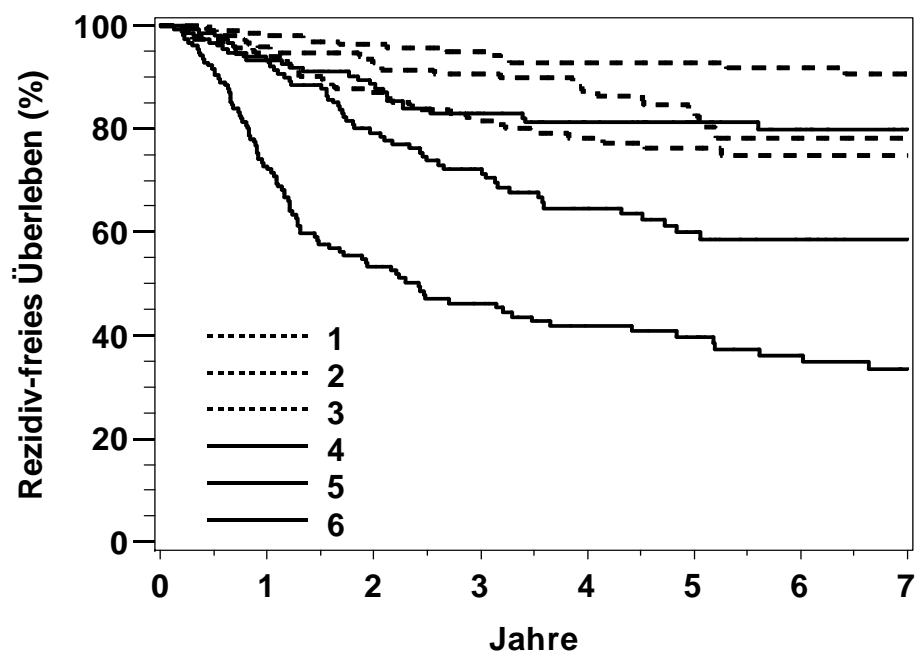


Abbildung 39: Kaplan-Meier Kurven für das rezidivfreie Überleben in beiden Prognosegruppen in Abhängigkeit vom Prognosescore. 1 – 3 = 1. – 3. Tertile der günstigen Prognosegruppe ; 4 – 6 = 1. – 3. Tertile der ungünstigen Prognosegruppe

3.2 Kollektiv II (n=450)

3.2.1 Tumormarker

Bei 450 Patienten lagen präoperative Serumkonzentrationen von CEA, CA 19-9 und CA 242 vor.

Die Werte der Tumormarker CA 72-4 (n=434), CYFRA 21-1 (n=433), hCG β (n=430), S100 (n=434) und HGF (n=405) konnten in einer geringeren Patientenfallzahl analysiert werden.

Bei insgesamt 27 Patienten fehlten Informationen hinsichtlich Rezidivierung. Die Evaluierung des Einflusses der Tumormarker auf das Überleben war bei allen Patienten dieses Unterkollektivs möglich.

3.2.1.1 CEA: Werteverteilung

In diesem Unterkollektiv lag der Median des präoperativen CEA-Wertes bei 2.2 ng/ml (Tabelle 22).

Nach Berücksichtigung der Unterteilung in eine günstige und ungünstige Prognosegruppe wurden Medianwerte von 1.9 ng/ml und 2.7 ng/ml gemessen und zeigten eine niedrigere bzw. höhere CEA-Freisetzung in diesen Gruppen (Tabelle 23)

Die Freisetzungsmuster des CEA-Wertes bezüglich der Tumordinfiltrationstiefe und des Lymphknotenstatus wurden untersucht (Tabelle 24, Abbildung 40). Der Median der CEA-Werte divergierte signifikant in niedrigen und hohen T-Stadien. Der größte Unterschied zeigte sich zwischen Stadium T1 und T4 (1.0 ng/ml und 3.6 ng/ml). Die CEA-Freisetzung nahm von T1 nach T4 stärker zu, als das im Patientenkollektiv I der Fall war.

Hinsichtlich der Medianwerte des CEA-Wertes unter Berücksichtigung des Lymphknotenstatus zeigte sich kein Unterschied zwischen Stadium N0 und N1 (beide 2.1 ng/ml). Ein signifikant höherer Medianwert wurde lediglich in Stadium N2 (3.2 ng/ml) gemessen. In diesem Unterkollektiv war CEA der einzige Tumormarker, der auch mit dem Lymphknotenstatus korrelierte.

3.2.1.2 CA 19-9: Werteverteilung

Der Median des präoperativen CA 19-9-Wertes lag bei 450 Patienten bei 11.8 U/ml (Tabelle 22).

Es wurde eine höhere CA 19-9 Freisetzung in günstigen als in der ungünstigen Prognosegruppe festgestellt. (12.4 U/ml vs. 11.5 U/ml; Tabelle 23).

Hinsichtlich der CA 19-9-Freisetzung unter Berücksichtigung der Tumorinfiltrationstiefe zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen niedrigen und hohen Stadien. Der Medianwert des CA 19-9-Wertes lag im Stadium T1 bei 8.1 U/ml und im Stadium T4 bei 17.1 U/ml.

Bezüglich der CA 19-9-Werte und des Lymphknotenstatus zeigten sich keine signifikante Unterschiede innerhalb der N-Stadien (N0 11.5 U/ml, N1 12.1 U/ml, N2 11.8 U/ml; Tabelle 24, Abbildung 41).

3.2.1.3 CA 242: Werteverteilung

Der Medianwert des CA 242 lag bei 7.6 ng/ml (Tabelle 22). Unter Berücksichtigung der Unterteilung in eine günstige und eine ungünstige Prognosegruppe wurden Mediane von 7 ng/ml und 8.4 ng/ml gemessen (Tabelle 23). Es zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen der CA 242-Freisetzung und der Tumorinfiltrationstiefe. In niedrigen Stadien wurden Medianwerte von 5.7 ng/ml und 8.2 ng/ml (T1 und T2) gemessen. In den Stadien T3 und T4 lagen Medianwerte bei 7.5 ng/ml und 11.4 ng/ml. Die Anzahl der befallenen Lymphknoten korrelierte nicht mit der CA 242-Freisetzung (Tabelle 24, Abbildung 42).

3.2.1.4 CA 72-4: Werteverteilung

Die CA 72-4-Werte der 434 Patienten lagen im Median bei 1.2 ng/ml (Tabelle 22). Ein geringfügig niedrigerer bzw. höherer Medianwert wurde in der günstigen bzw. ungünstigen Prognosegruppe gemessen (1.1 ng/ml vs. 1.3 ng/ml; Tabelle 23). Die CA 72-4-Freisetzung korrelierte signifikant mit der Tumorinfiltrationstiefe. Der Medianwert differierte am Stärksten zwischen Stadium T1 (0.8 ng/ml) und Stadium T4 (2.2 ng/ml). Es konnte kein Zusammenhang zwischen dem N-Stadium und der CA 72-4-Freisetzung festgestellt werden (Tabelle 24, Abbildung 43).

3.2.1.5 CYFRA 21-1: Werteverteilung

Bei den 433 Patienten, sowie innerhalb der beiden Prognosegruppen lag der Medianwert des CYFRA 21-1 stets bei 1.4 ng/ml (Tabelle 22, Tabelle 23). Der CYFRA 21-1-Wert nahm in Abhängigkeit des T-Stadiums signifikant zu. Bei T1-Tumoren wurde ein CYFRA 21-1-Wert von 1.2 ng/ml, bei T4-Tumoren eine Konzentration von 1.7 ng/ml im Median gemessen. Bezüglich der CYFRA 21-1-Werte und des Lymphknotenstatus zeigten sich keine signifikante Unterschiede innerhalb der N-Stadien (Tabelle 24, Abbildung 44).

3.2.1.6 hCGβ: Werteverteilung

Der hCGβ-Wert war bei 430 Patienten vorhanden und lag im Median bei 0.71 pmol/l (Tabelle 22). In der günstigen Prognosegruppe wurde ein etwas niedriger Wert, in der ungünstigen Prognosegruppe ein etwas höherer Wert gemessen (0.68 pmol/l vs. 0.73 pmol/l; Tabelle 23).

Es bestand ein Zusammenhang zwischen der Höhe der hCGβ-Freisetzung und des T-Stadiums, der allerdings nur knapp das Signifikanzniveau erreichte. Für die Stadien T1 und T4 wurden Medianwerte von 0.5 pmol/l und 0.9 pmol/l gemessen. Die hCGβ-Freisetzung wurde durch den Lymphknotenbefall nicht beeinflusst (Tabelle 24, Abbildung 45).

3.2.1.7 S100: Werteverteilung

Der Median der S100-Konzentration lag bei den 434 Patienten sowie in der günstigen Prognosegruppe bei 0.023 ng/ml (Tabelle 22). In der ungünstigen Prognosegruppe wurde ein Medianwert von 0.022 ng/ml gemessen (Tabelle 23). Hinsichtlich der S100-Freisetzung unter Berücksichtigung der verschiedenen T-Stadien zeigte sich interessanterweise eine reziproke Korrelation. Während im Stadium T1 der Medianwert bei 0.030 ng/ml lag, wurde im Stadium T4 ein Wert von 0.018 gemessen. Dieser Zusammenhang war signifikant.

In der Analyse der S100-Konzentration bezüglich des Lymphknotenstatus zeigte sich ebenfalls die Tendenz zu niedrigeren Medianwerte bei höheren Stadien. Ein signifikanter Zusammenhang konnte jedoch nicht festgestellt werden (Tabelle 24, Abbildung 46).

3.2.1.8 HGF: Werteverteilung

Die HGF-Werte von 405 Patienten wurden ausgewertet und lagen im Median bei 1377 pg/ml (Tabelle 22).

In der günstigen und ungünstigen Prognosegruppe lagen die Medianwerte bei 1357 pg/ml und 1443 pg/ml (Tabelle 23). Es zeigte sich bezüglich der HGF-Freisetzung und der Tumordinfiltrationstiefe ein signifikanter Zusammenhang. Der Medianwert lag bei T1-Tumoren bei 1162 pg/ml, bei T4-Tumoren bei 1967 pg/ml. Die HGF-Freisetzung korrelierte nicht mit dem Lymphknotenbefall (Tabelle 24, Abbildung 47).

Tabelle 22: Tumormarkerkonzentrationen im Kollektiv II

	Alle Patienten				
	n	Median	Unteres Quartil	Oberes Quartil	Bereich
CEA (ng/ml)	450	2.2	1.2	5.0	<1 - 391
CA 19-9 (U/ml)	450	11.8	5.8	25.3	2.5 - 628
CA 242 (ng/ml)	450	7.6	3.7	17.2	0.01 - 1111
CA 72-4 (ng/ml)	434	1.2	0.7	3.1	0.2 - 228
CYFRA 21-1 (ng/ml)	433	1.4	1.1	2.0	0.4 - 51.1
hCG β (pmol/l)	430	0.71	0.47	1.14	0.01 - 12.35
S100 (ng/ml)	434	0.023	0.015	0.036	0.001 - 0.380
HGF (pg/ml)	405	1377	1089	1688	139 - 6014

Tabelle 23: Tumormarkerkonzentrationen in den unterschiedlichen Prognosegruppen

	GPG				
	n	Median	Unteres Quartil	Oberes Quartil	Bereich
CEA (ng/ml)	260	1.9	1.1	4.6	<1 - 388
CA 19-9 (U/ml)	260	12.4	5.7	23.6	2.5 - 628
CA 242 (ng/ml)	260	7	3.6	16.5	0.01 - 1111
CA 72-4 (ng/ml)	252	1.1	0.7	2.8	0.2 - 181
CYFRA 21-1 (ng/ml)	252	1.4	1.1	2	0.4 - 14.2
hCGβ (pmol/l)	250	0.68	0.45	1.17	0.01 - 8.10
S100 (ng/ml)	252	0.023	0.015	0.037	0.001 - 0.380
HGF (pg/ml)	231	1357	1072	1668	139 - 5097
	UPG				
	n	Median	Unteres Quartil	Oberes Quartil	Bereich
CEA (ng/ml)	190	2.7	1.2	5.9	<1 - 391
CA 19-9 (U/ml)	190	11.5	5.9	26.8	2.5 - 299
CA 242 (ng/ml)	190	8.4	3.9	18.0	0.1 - 970
CA 72-4 (ng/ml)	182	1.3	0.7	3.7	0.3 - 228
CYFRA 21-1 (ng/ml)	181	1.4	1.0	2.0	0.4 - 51.1
hCGβ (pmol/l)	180	0.73	0.48	1.05	0.01 - 12.35
S100 (ng/ml)	182	0.022	0.014	0.036	0.001 - 0.184
HGF (pg/ml)	174	1443	1158	1736	220 - 6014

GPG = günstige Prognosegruppe, UPG = ungünstige Prognosegruppe

Tabelle 24: Mediane der Tumormarkerkonzentrationen bezüglich der Tumorinfiltrationstiefe (T) und des Lymphknotenstatus (N)

	T1	T2	T3	T4	p	N0	N1	N2	p
CEA (ng/ml)	1.0	1.9	2.7	3.6	<0.001	2.1	2.1	3.2	0.030
CA 19-9 (U/ml)	9.0	11.1	11.5	19.9	0.001	11.5	12.1	11.8	NS
CA 242 (ng/ml)	5.7	8.2	7.5	11.4	0.002	7.0	9.0	9.4	NS
CA 72-4 (ng/ml)	0.8	1.1	1.3	2.2	<0.001	1.2	1.2	1.4	NS
CYFRA 21-1 (ng/ml)	1.2	1.4	1.4	1.7	<0.001	1.4	1.3	1.4	NS
hCGβ (pmol/l)	0.5	0.8	0.7	0.9	0.050	0.7	0.8	0.6	NS
S100 (ng/ml)	0.030	0.025	0.022	0.018	0.021	0.023	0.022	0.020	NS
HGF (pg/ml)	1162	1289	1411	1967	<0.001	1368	1377	1474	NS

NS= nicht signifikant

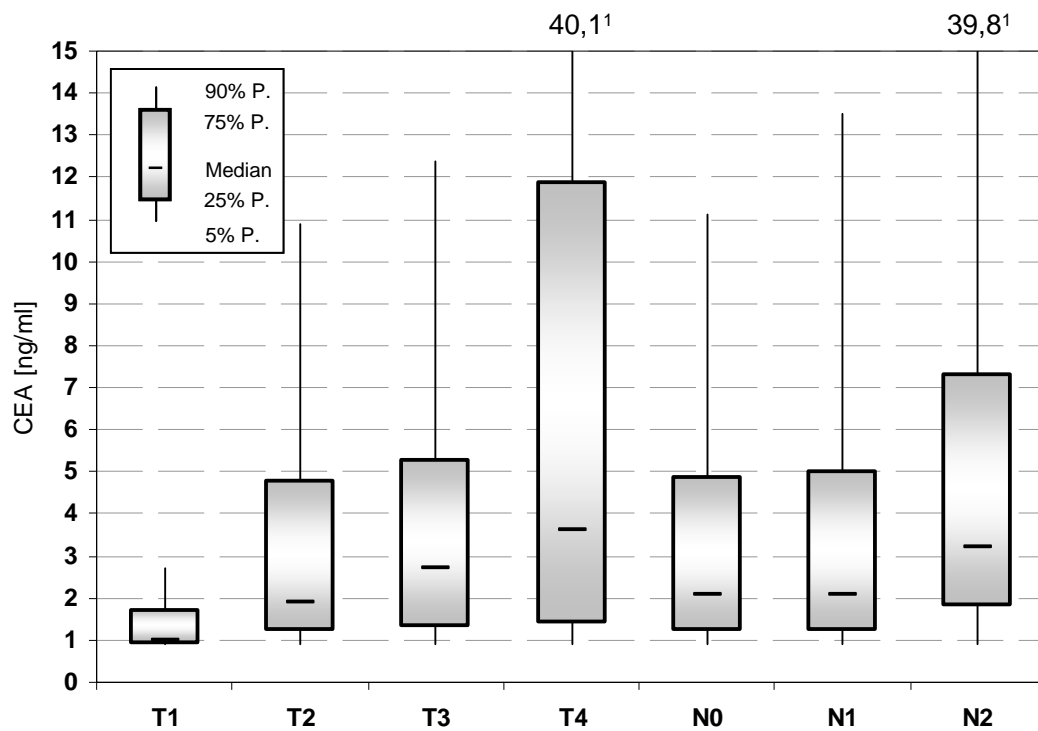


Abbildung 40: CEA-Freisetzung bezüglich T- und N-Stadien. ¹90%-Perzentile. N=450. T: $p < 0.001$, N: $p = 0.030$.

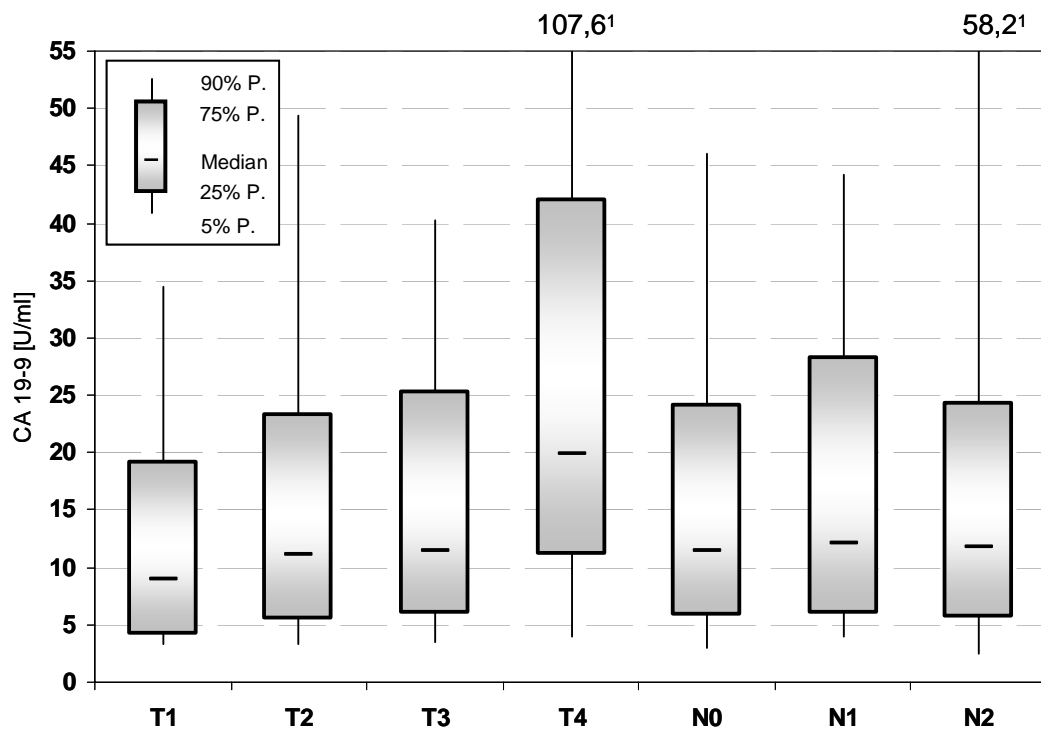


Abbildung 41: CA 19-9-Freisetzung bezüglich T- und N-Stadien. ¹90%-Perzentile. N=450. T: $p = 0.001$, N: $p = \text{NS}$.

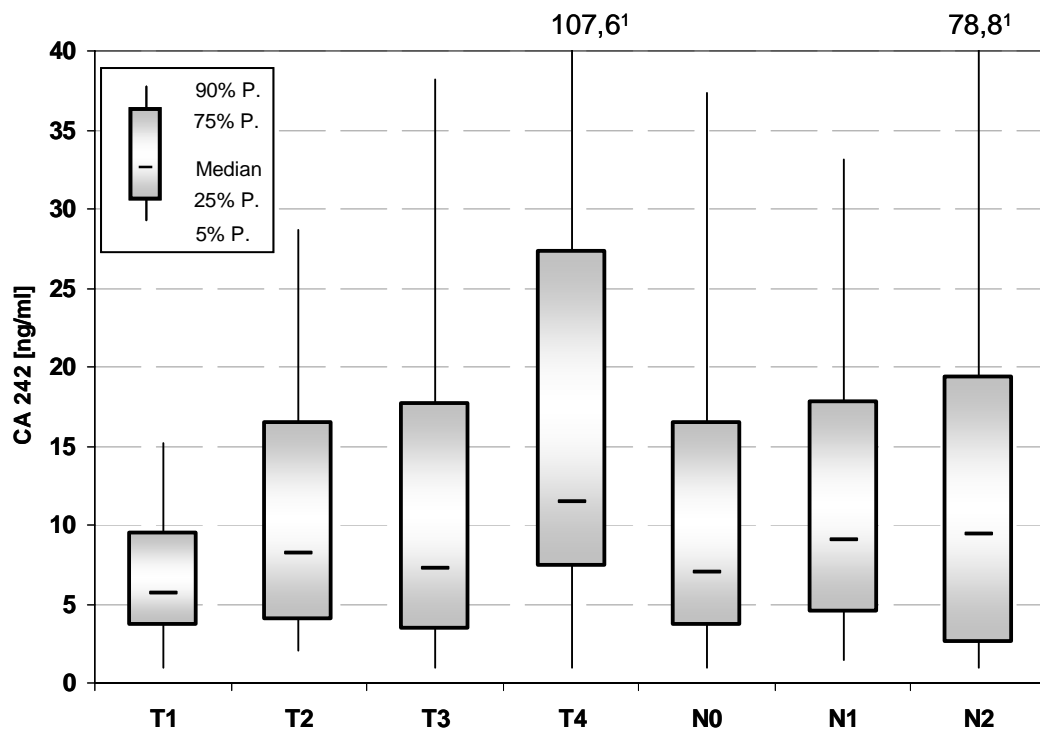


Abbildung 42: CA 242-Freisetzung bezüglich T- und N-Stadien. ¹90%-Perzentile. N=450. T: p=0.002, N: p=NS.

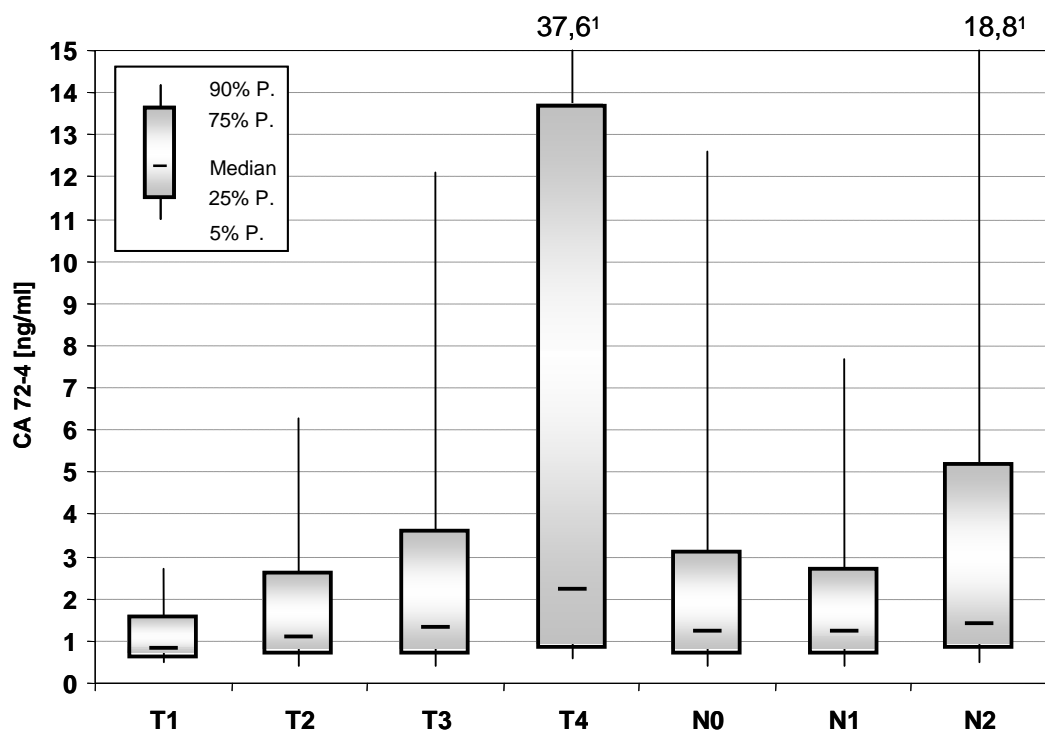


Abbildung 43: CA 72-4-Freisetzung bezüglich T- und N-Stadien. ¹90%-Perzentile. N=434. T: p<0.001, N: p=NS.

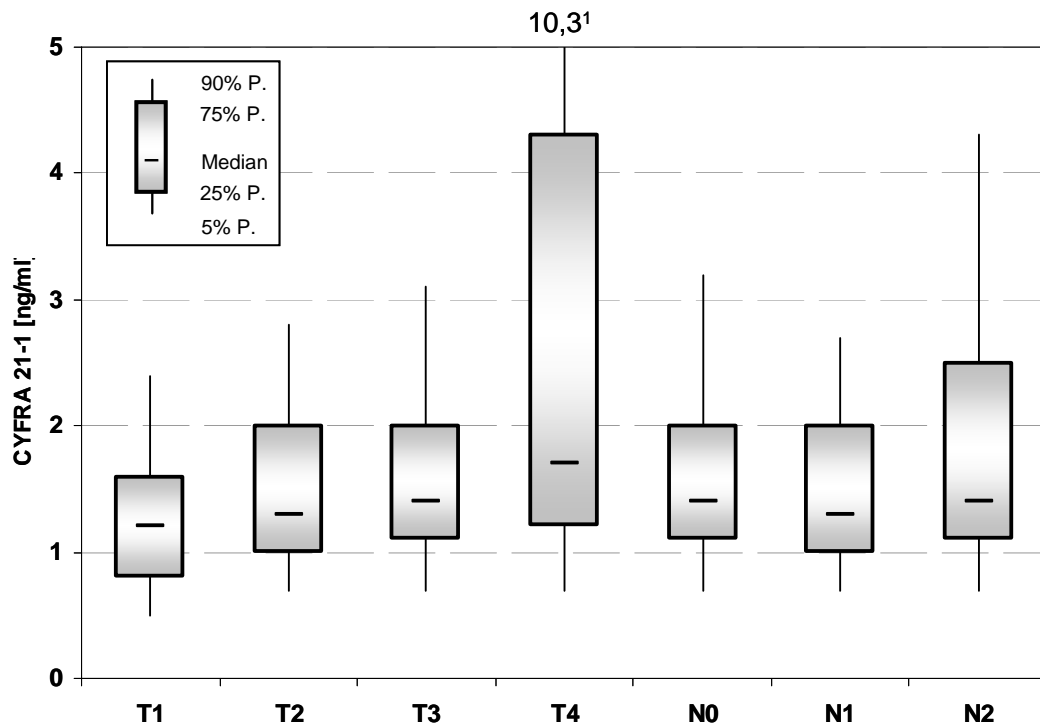


Abbildung 44: CYFRA 21-1-Freisetzung bezüglich T- und N-Stadien. ¹90%-Perzentile. N=433. T: p<0.001, N: p=NS.

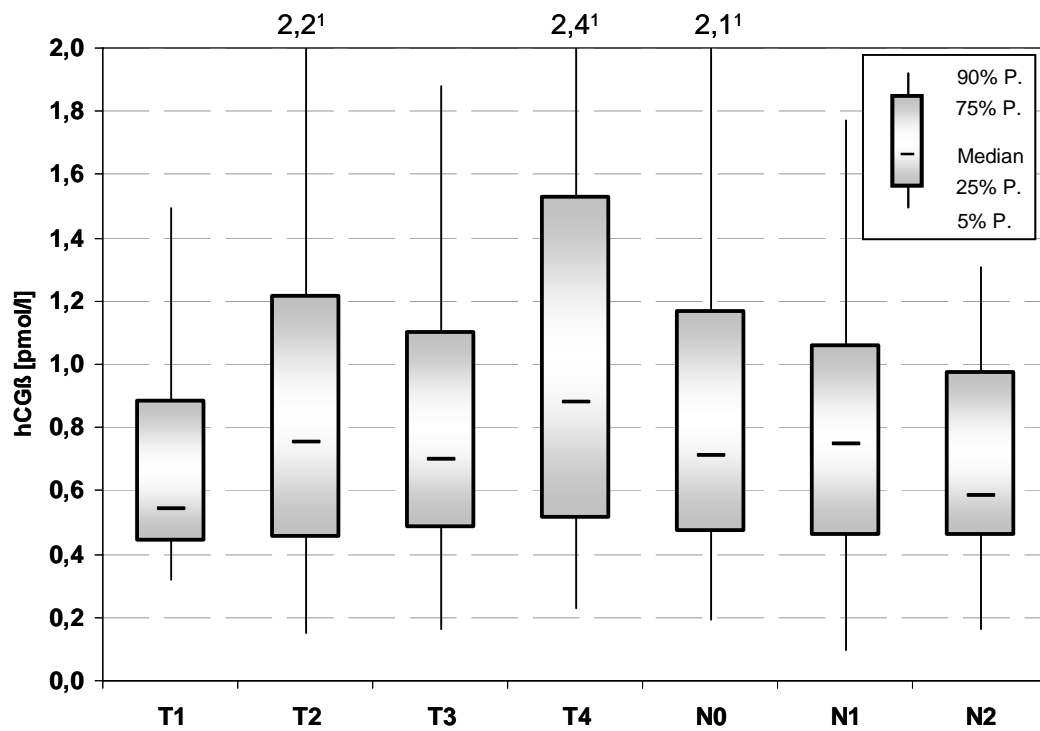


Abbildung 45: hCGβ-Freisetzung bezüglich T- und N-Stadien. ¹90%-Perzentile. N=433. T: p=0.050, N: p=NS.

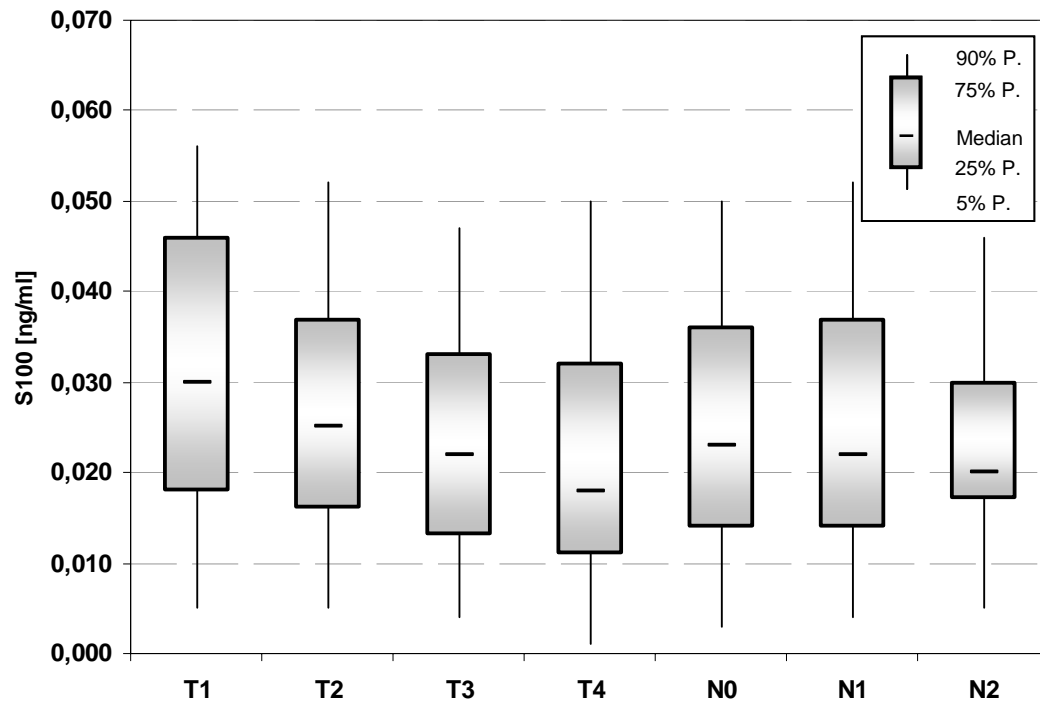


Abbildung 46: S100-Freisetzung bezüglich T- und N-Stadien. N=434. T: $p=0.021$, N: $p=NS$.

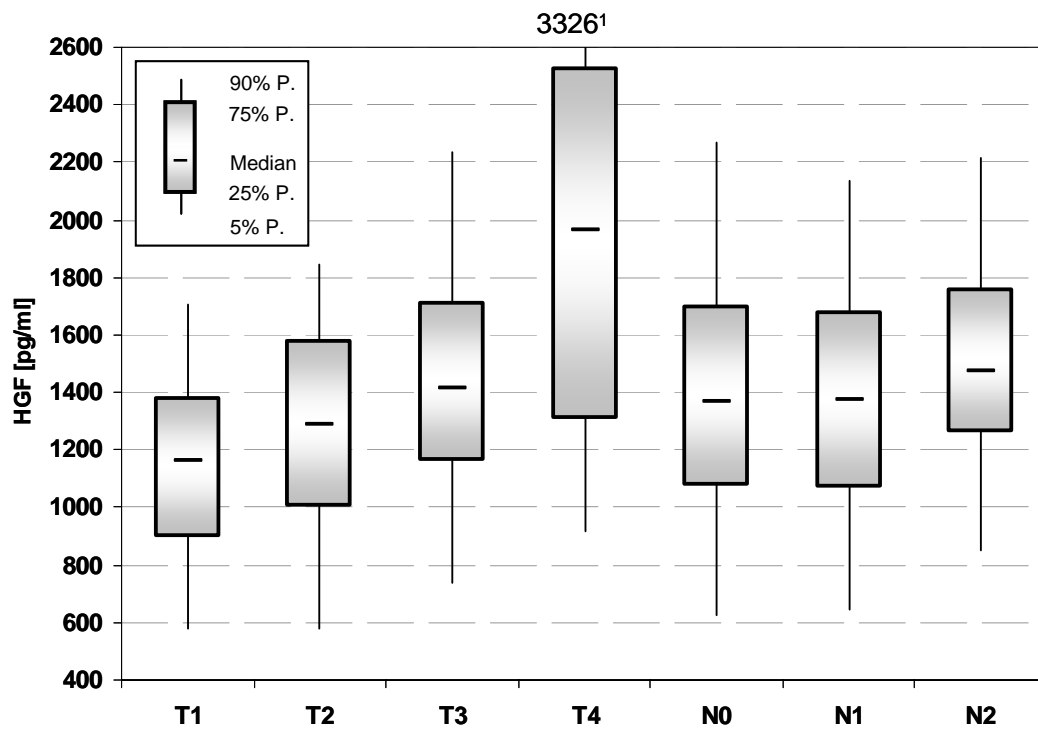


Abbildung 47: HGF-Freisetzung bezüglich T- und N-Stadien. ¹90%-Perzentile. N=405. T: $p<0.001$, N: $p=NS$.

3.2.1.9 Korrelationen

Es wurde überprüft, ob die Höhe der Freisetzung eines Tumormarkers mit der Höhe der Freisetzung eines anderen Tumormarkers korrelierte (Tabelle 25). Signifikante Korrelationen lagen ab einem $r \geq 0.1$ vor. Die höchste Korrelation ergab sich für CA 19-9 und CA 242 ($r=0.79$). Weitere, stärker korrelierende Freisetzungsmuster ($r \geq 0.3$) ergaben sich für CA 19-9 und CEA ($r=0.36$), CYFRA 21-1 und HGF ($r=0.35$) sowie CYFRA 21-1 und hCG β ($r=0.32$).

Tabelle 25: Korrelationen der Tumormarker (Spearman'scher Korrelationskoeffizient)

	CEA	CA 19-9	CA 242	CA 72-4	CYFRA	hCG β	S100	HGF
CEA		0.36	0.32	0.20	0.26	0.16	-0.02	0.24
CA 19-9	0.36		0.79	0.06	0.17	0.15	0.06	0.27
CA 242	0.32	0.79		0.06	0.09	0.07	0.04	0.15
CA 72-4	0.20	0.06	0.06		0.27	0.07	-0.04	0.12
CYFRA	0.26	0.17	0.09	0.27		0.32	-0.04	0.35
hCG β	0.16	0.15	0.07	0.07	0.32		0.04	0.26
S100	-0.02	0.06	0.04	-0.04	-0.04	0.04		-0.05
HGF	0.24	0.27	0.15	0.12	0.35	0.26	-0.05	

3.2.1.10 Cut-Off-Bestimmung

Wie bereits beim Kollektiv I war Log (CEA) auch hier der einzige Tumormarker der Stetigkeit zeigte. CEA ist als kontinuierliche Variable in die multivariate Analyse eingegangen. Ein Cut-Off-Wert von 5 ng/ml wurde für die univariate Analyse verwendet (s. Kollektiv I). Die entsprechenden Abbildungen zeigen den Anstieg der logarithmierten Hazard Ratio (Abbildung 48) bzw. der 2-Jahres-Rezidivierungsrate (Abbildung 49) in Abhängigkeit von der CEA-Konzentration.

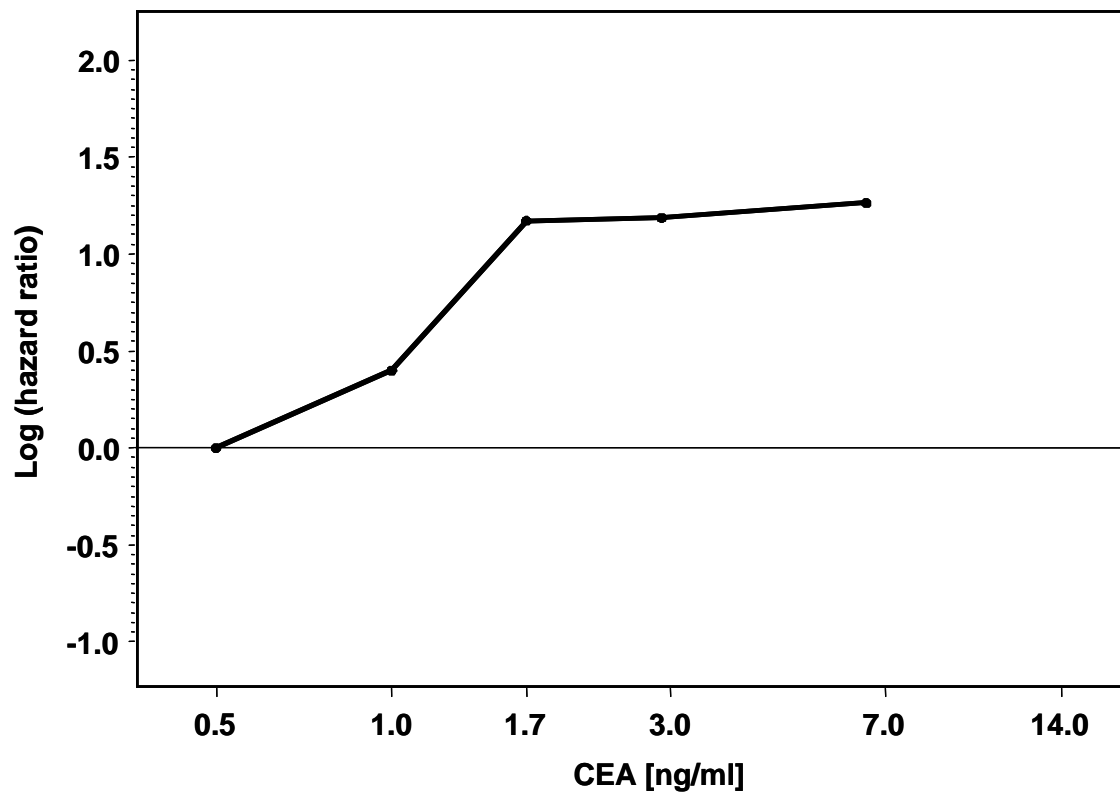


Abbildung 48: Stetigkeitsprüfung für log (CEA). Endpunkt Rezidivierung. • = Logarithmierte Hazard Ratio bezüglich der Quintilen der CEA-Konzentration.

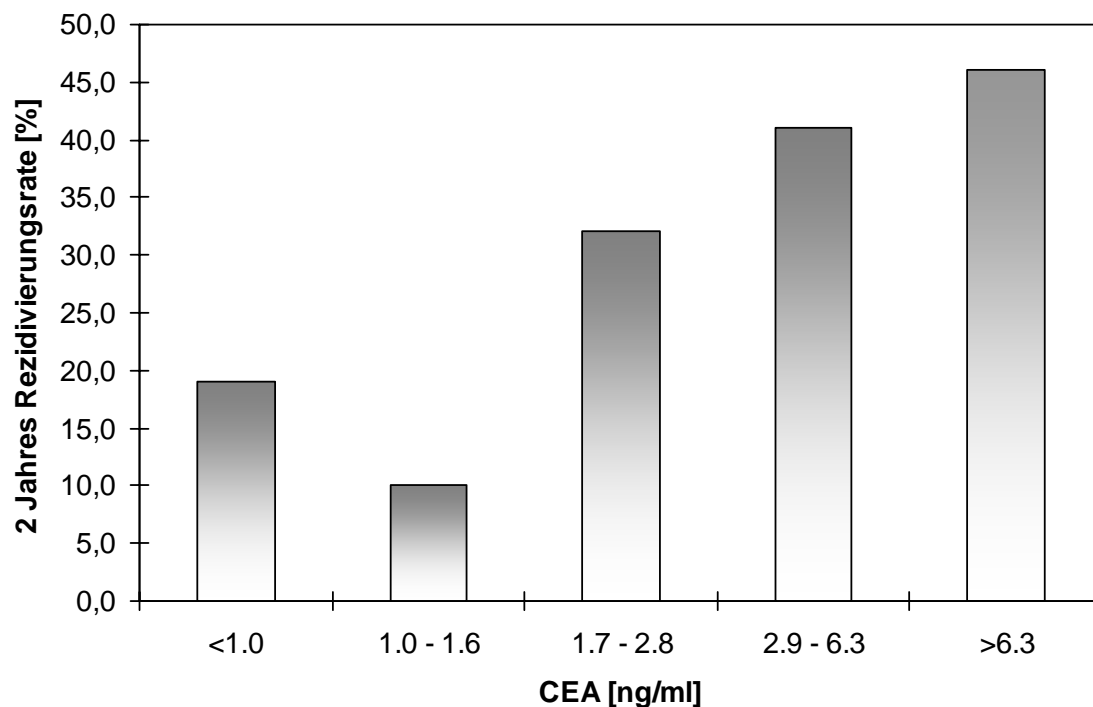


Abbildung 49: Stetigkeitsprüfung anhand der 2-Jahres Rezidivierungsrate in Abhängigkeit von der CEA-Konzentration.

Bei den Tumormarkern CA 19-9, CA 242 und CA 72-4 konnten nur signifikante Cut-Off-Werte innerhalb der ungünstigen Prognosegruppe gefunden werden.

Beim CA 19-9 waren Cut-Off-Werte ab 50 U/ml grenzwertig signifikant. Der höchste Chi-square-Wert wurde uni- und multivariat für einen Cut-off von 75 U/ml errechnet (Abbildung 50, Abbildung 51).

Im Bootstrapverfahren wurde der Wert 55 U/ml 71 Mal und der Wert 75 U/ml 81 Mal als Wert mit der höchsten Signifikanz gefunden.

Für CA 242 wurde in der weiteren Auswertung der Cut-Off 45 ng/ml verwendet. Abbildung 52 zeigt Cut-Off-Werte oberhalb des Signifikanzniveaus ab einem Wert von 40 ng/ml.

Der Wert 45 U/ml war im Bootstrapverfahren am Häufigsten signifikant (93 Treffer).

Kein CA 72-4-Wert erreichte Signifikanz bei Berücksichtigung des rezidivfreien Überlebens. Wurde hinsichtlich des Überlebens ausgewertet so erreichten Werte zwischen 6 und 20 ng/ml Signifikanz (Abbildung 54, Abbildung 55). Der Wert 8 ng/ml wurde im Bootstrapverfahren 78 Mal gefunden und für die weitere Auswertung als Cut-Off verwendet.

Für CYFRA 21-1 und hCG β konnte weder in der günstigen noch in der ungünstigen Prognosegruppe hinsichtlich der Rezidivierung oder des Überlebens ein signifikanter und reproduzierbarer Cut-Off-Wert gefunden werden (Abbildung 56, Abbildung 57, Abbildung 58, Abbildung 59).

Für S100 wurde innerhalb der ungünstigen Prognosegruppe kein relevanter Cut-Off-Wert gefunden (Abbildung 60). Innerhalb der günstigen Prognosegruppe zeigte sich ein deutlicher Anstieg der uni- und multivariaten chi-square Kurve ab einer S100-konzentration von ca. 0.02 ng/ml sowohl in der Auswertung der Rezidivierung als auch des Überlebens (Abbildung 61, Abbildung 62). Nach Validierung durch das Bootstrapverfahren (92 Treffer) wurde der S100-Wert 0.030 ng/ml als Cut-Off verwendet.

HGF war der einzige Tumormarker für den Cut-Off-Werte innerhalb der günstigen und ungünstigen Prognosegruppe gefunden werden konnten.

In der ungünstigen Prognosegruppe lagen die HGF-Werte in der Auswertung des rezidivfreien Überlebens im Bereich 1400 bis 2000 pg/ml grenzwertig im signifikanten Bereich. Wurde das Überleben berücksichtigt so erreichte HGF im Bereich 1000 bis 2000 pg/ml sowohl uni- als auch multivariat Chi-Quadrat-Werte oberhalb des adjustierten Signifikanzniveaus (Abbildung 63, Abbildung 64).

In der günstigen Prognosegruppe unter Berücksichtigung des Überlebens wurden bei der HGF-Konzentration 1500 pg/ml uni- und multivariat Chi-Quadrat-Werte oberhalb des adjustierten Signifikanzniveaus erreicht. Univariat wurde auch im Wertebereich 2000 bis

2400 pg/ml dieses Signifikanzniveau erreicht.

Nach Validierung durch das Bootstrapverfahren (63 Treffer) wurde der HGF-Wert 1900 pg/ml als Cut-Off verwendet.

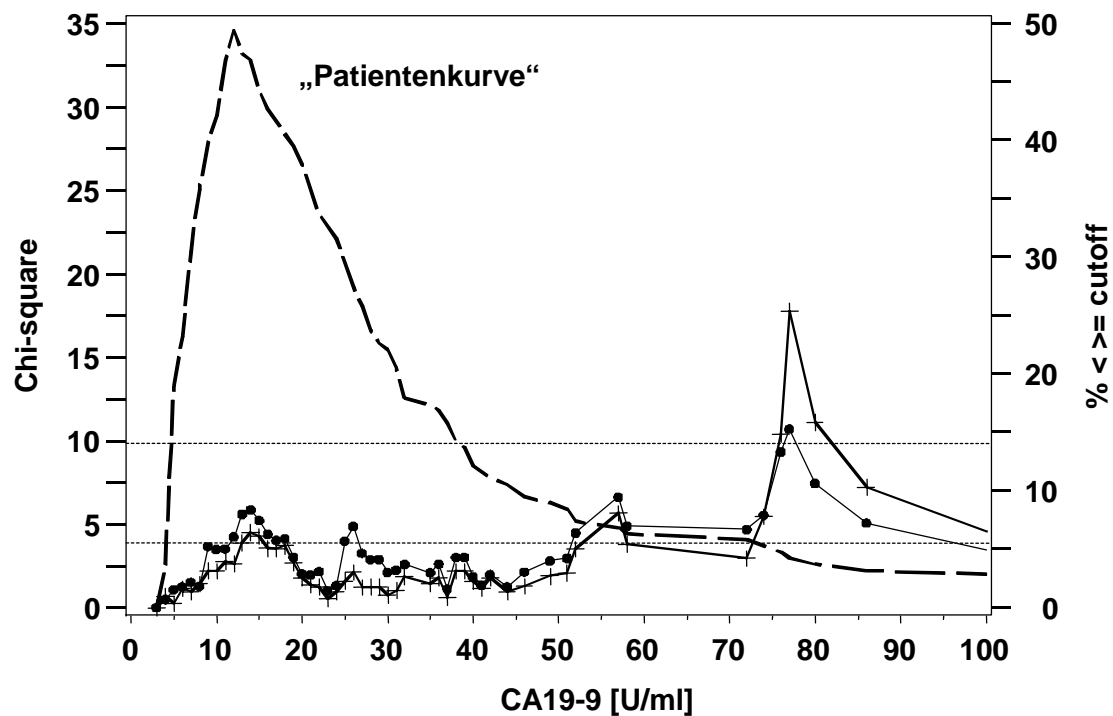


Abbildung 50: Ungünstige Prognosegruppe. Cut-Off Bestimmung für CA 19-9. Endpunkt Rezidivierung. Bootstrap-Verfahren: 55 U/ml = 71 Treffer; 75 U/ml = 81 Treffer. Legende s. Abbildung 12.

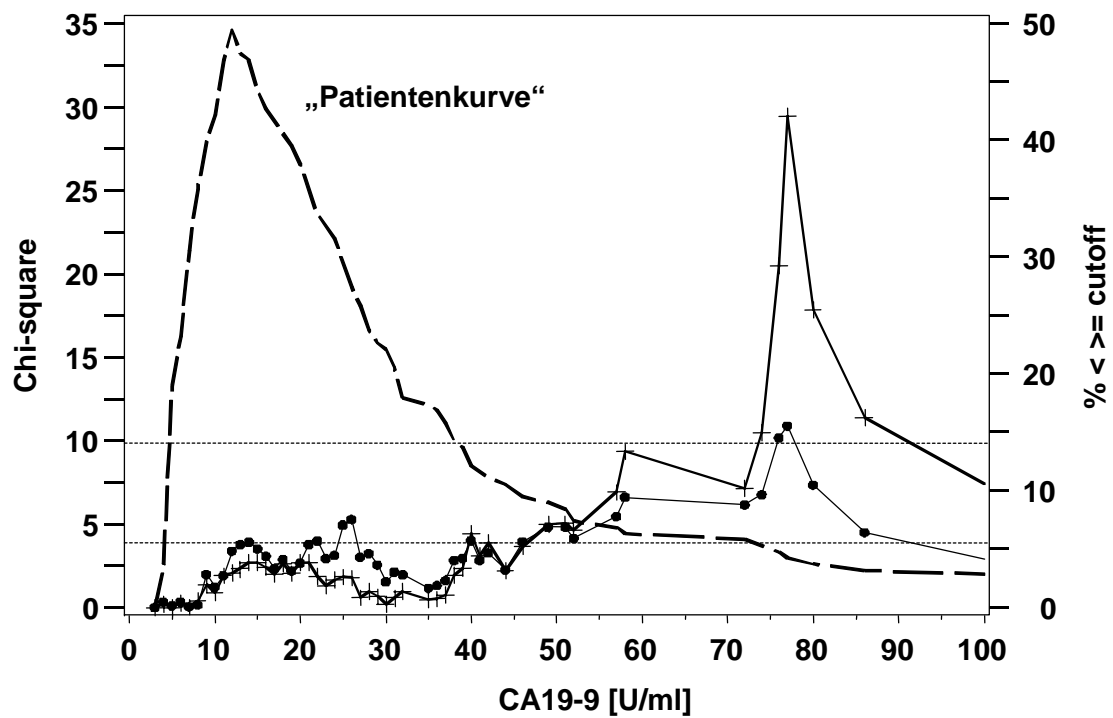


Abbildung 51: Ungünstige Prognosegruppe. Cut-Off Bestimmung für CA 19-9. Endpunkt tumorbedingtes Versterben. Legende s. Abbildung 12.

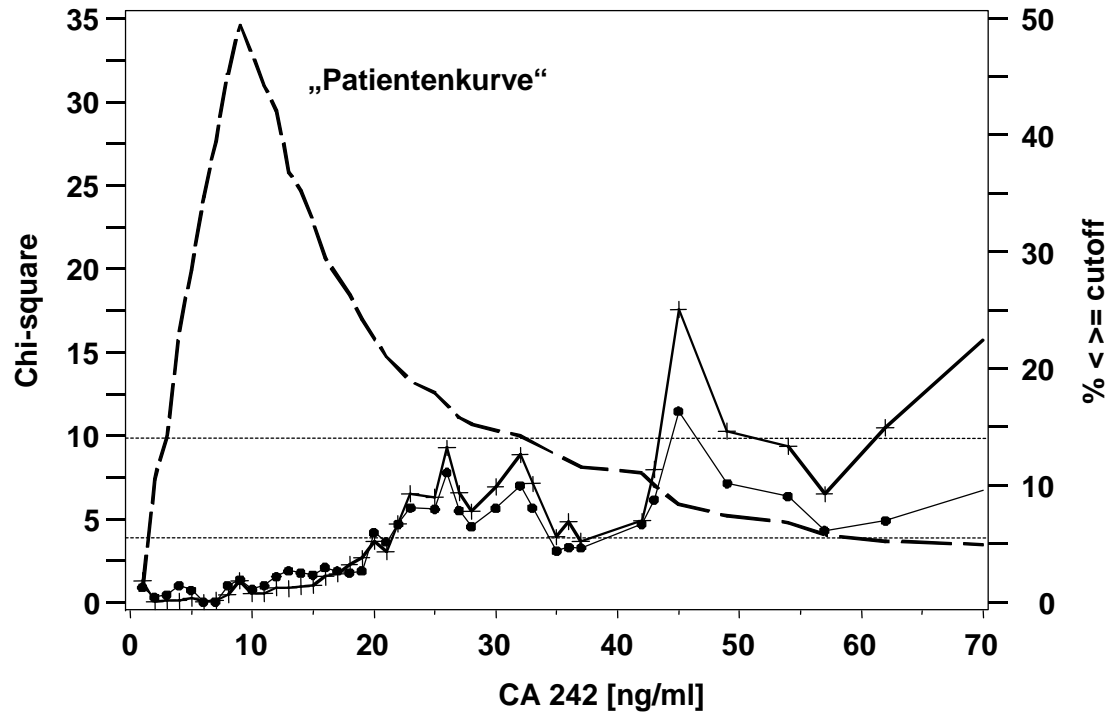


Abbildung 52: Ungünstige Prognosegruppe. Cut-Off Bestimmung für CA 242. Endpunkt Rezidivierung. Bootstrap-Verfahren: 45 ng/ml = 93 Treffer. Legende s. Abbildung 12.

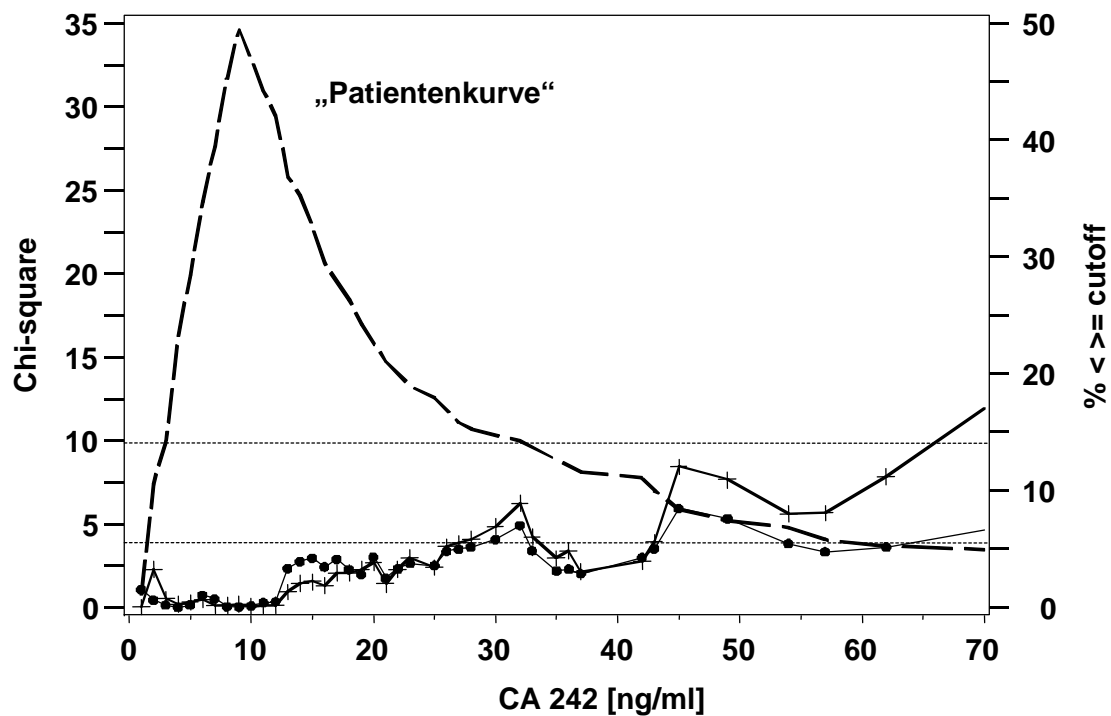


Abbildung 53: Ungünstige Prognosegruppe. Cut-Off Bestimmung für CA 242. Endpunkt tumorbedingtes Versterben. Legende s. Abbildung 12.

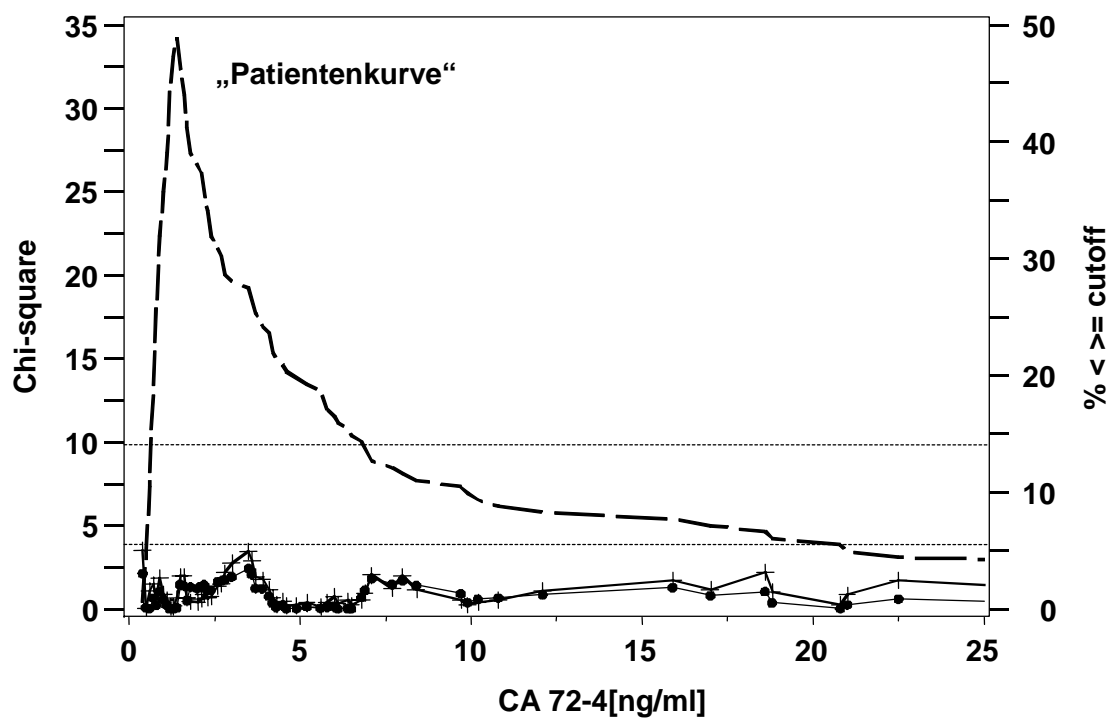


Abbildung 54: Ungünstige Prognosegruppe. Cut-Off Bestimmung für CA 72-4. Endpunkt Rezidivierung. Legende s. Abbildung 12.

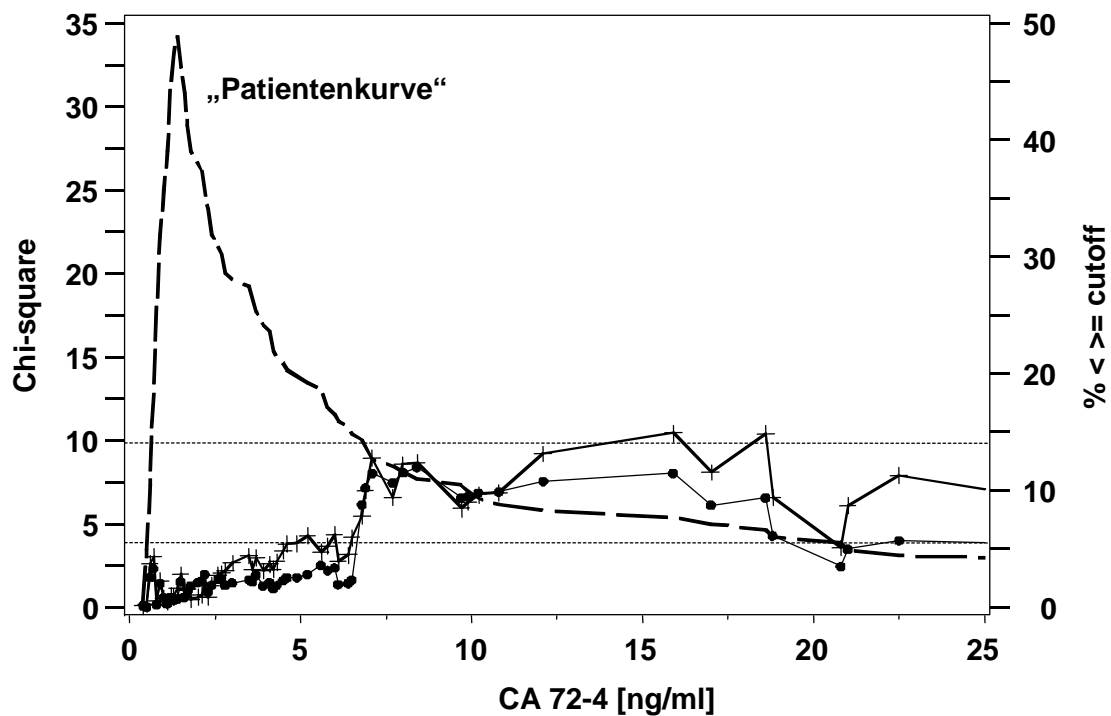


Abbildung 55: Ungünstige Prognosegruppe. Cut-Off Bestimmung für CA 72-4. Endpunkt tumorbedingtes Versterben. Bootstrap-Verfahren: 8 ng/ml = 78 Treffer. Legende s. Abbildung 12.

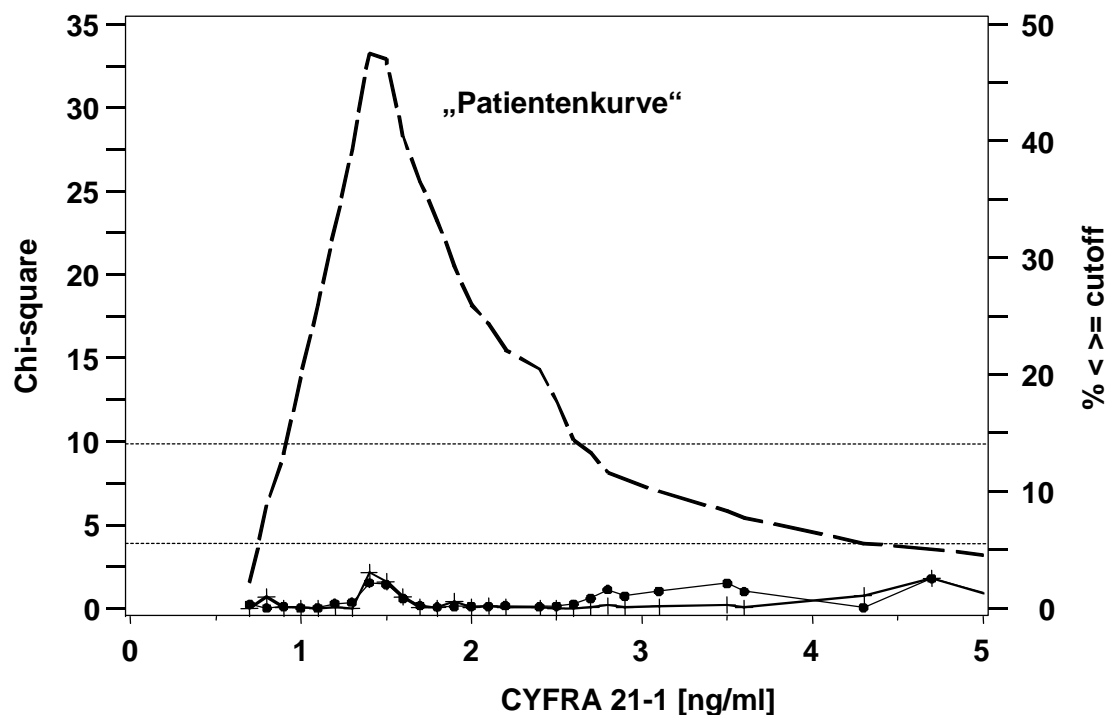


Abbildung 56: Ungünstige Prognosegruppe. Cut-Off Bestimmung für CYFRA 21-1. Endpunkt Rezidivierung. Legende s. Abbildung 12.

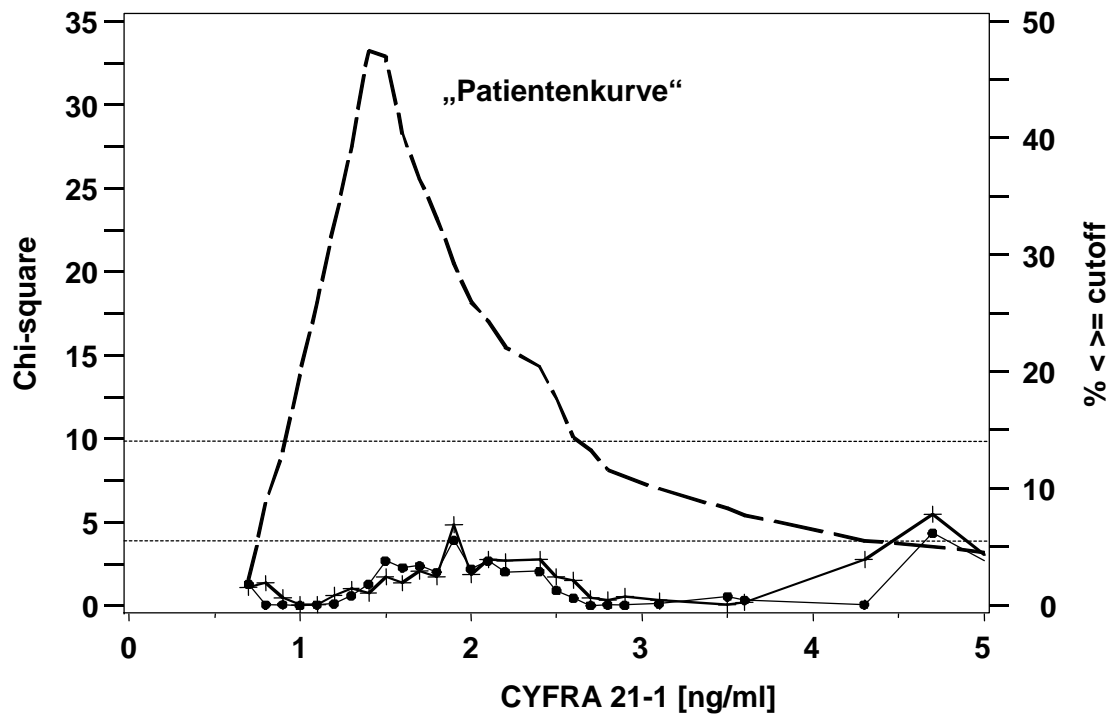


Abbildung 57: Ungünstige Prognosegruppe. Cut-Off Bestimmung für CYFRA 21-1. Endpunkt tumorbedingtes Versterben. Legende s. Abbildung 12.

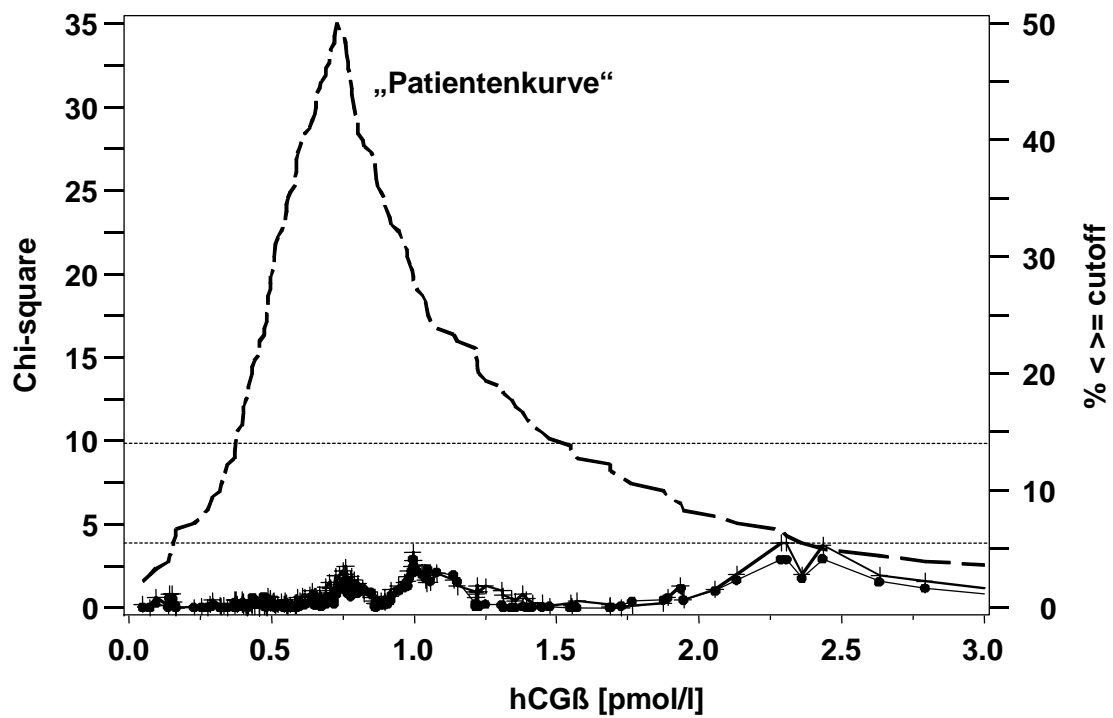


Abbildung 58: Ungünstige Prognosegruppe. Cut-Off Bestimmung für hCGβ. Endpunkt Rezidivierung. Legende s. Abbildung 12.

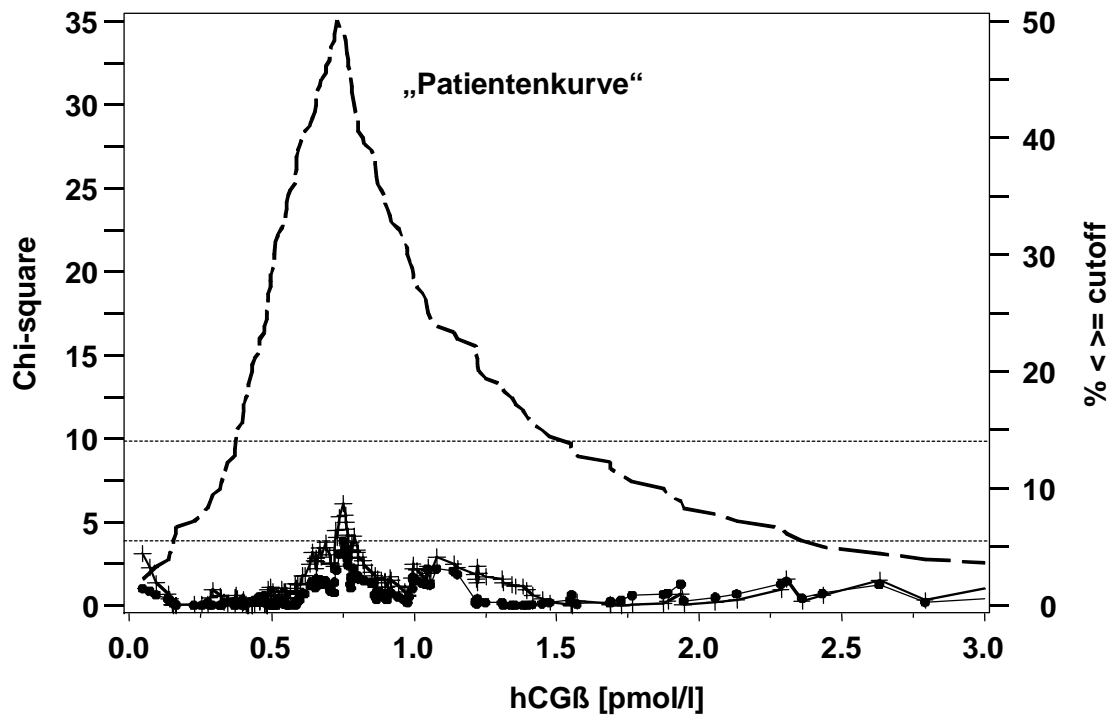


Abbildung 59: Ungünstige Prognosegruppe. Cut-Off Bestimmung für hCGβ. Endpunkt tumorbedingtes Versterben. Legende s. Abbildung 12.

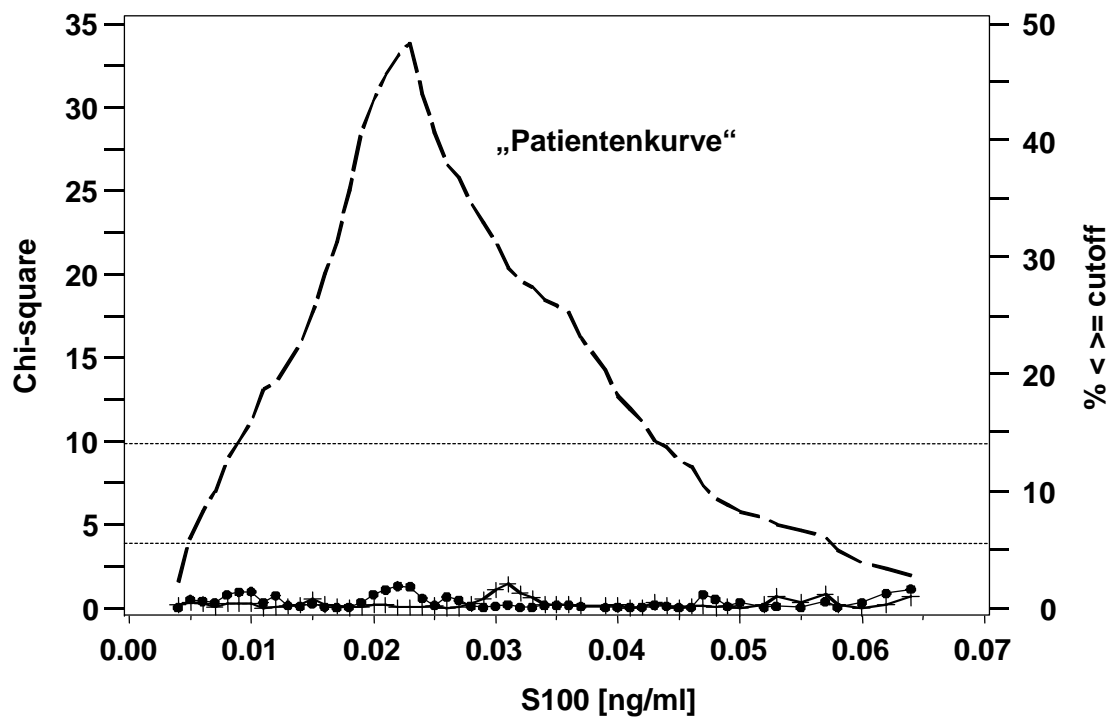


Abbildung 60: Ungünstige Prognosegruppe. Cut-Off Bestimmung für S100. Endpunkt Rezidivierung. Legende s. Abbildung 12.

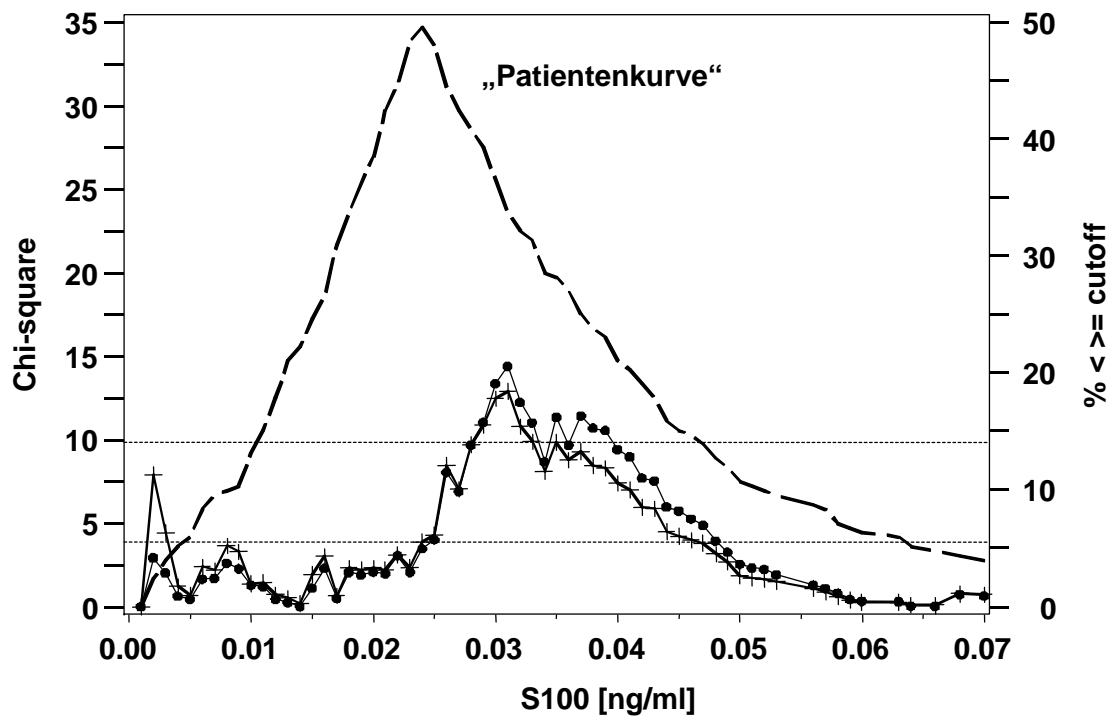


Abbildung 61: Günstige Prognosegruppe. Cut-Off Bestimmung für S100. Endpunkt Rezidivierung. Bootstrap-Verfahren: 0.03 ng/ml = 92 Treffer. Legende s. Abbildung 12.

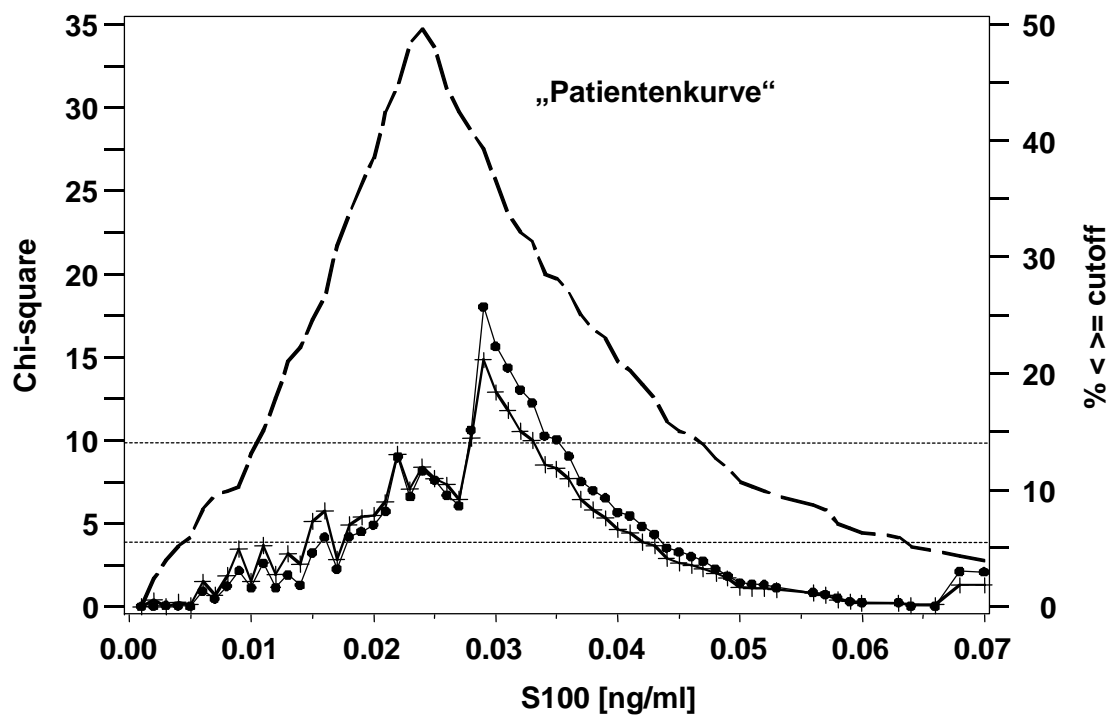


Abbildung 62: Günstige Prognosegruppe. Cut-Off Bestimmung für S100. Endpunkt tumorbedingtes Versterben. Legende s. Abbildung 12.

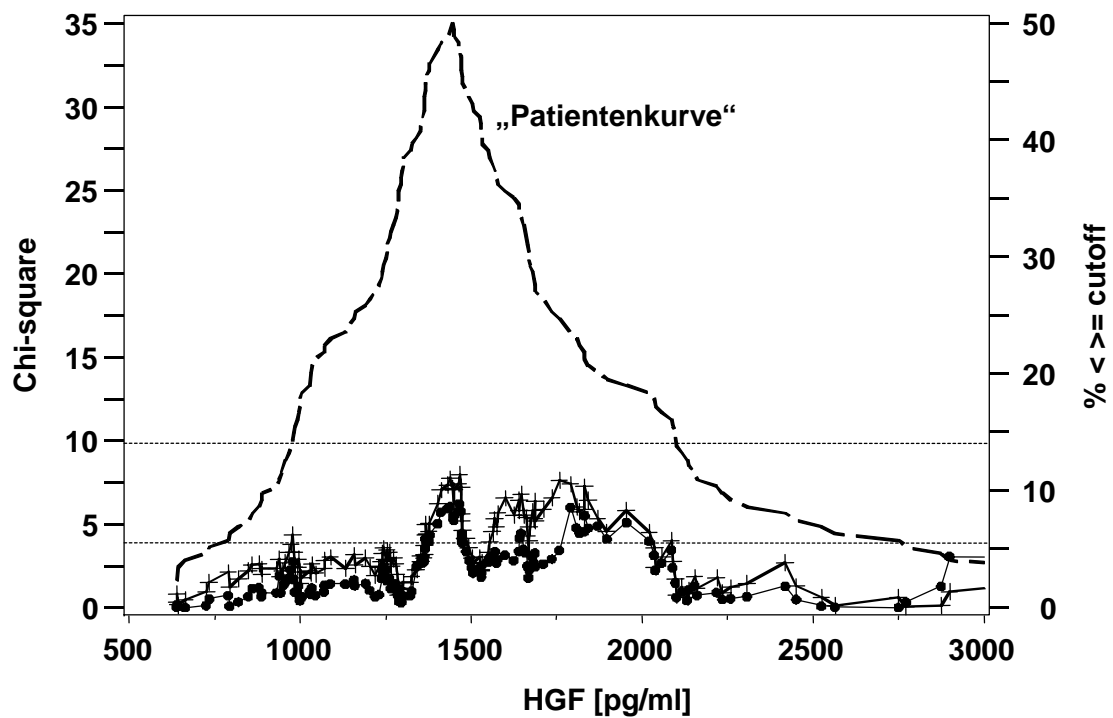


Abbildung 63: Ungünstige Prognosegruppe. Cut-Off Bestimmung für HGF. Endpunkt Rezidivierung. Bootstrap-Verfahren: 1900 pg/ml = 63 Treffer. Legende s. Abbildung 12.

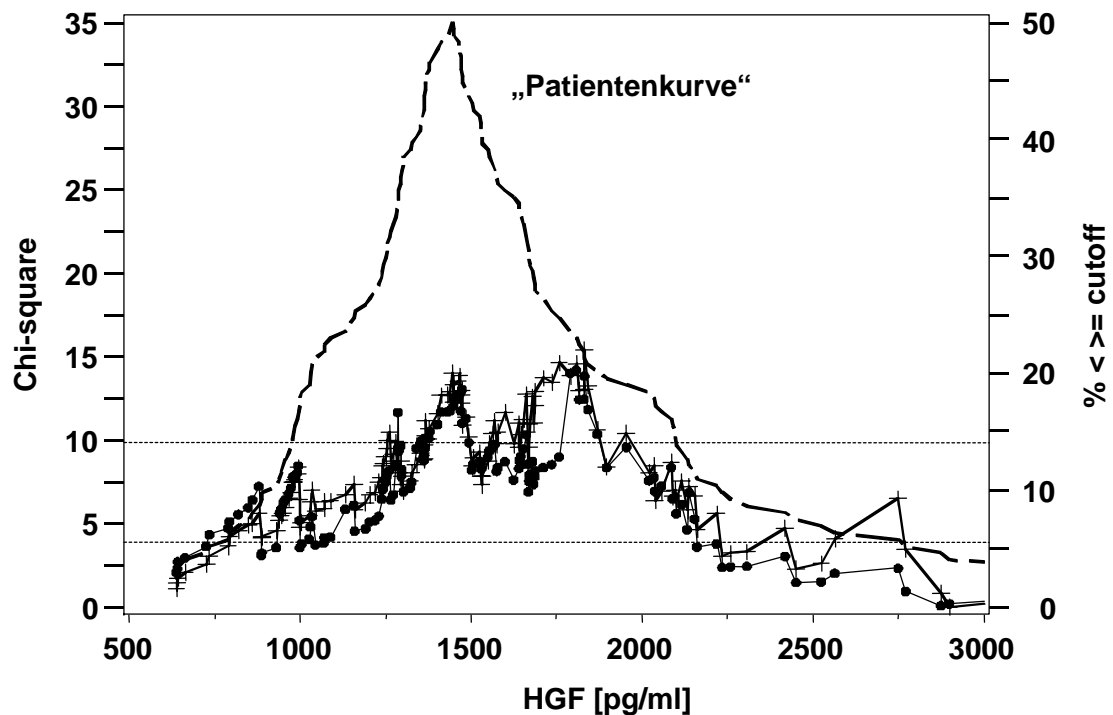


Abbildung 64: Ungünstige Prognosegruppe. Cut-Off Bestimmung für HGF. Endpunkt tumorbedingtes Versterben. Legende s. Abbildung 12.

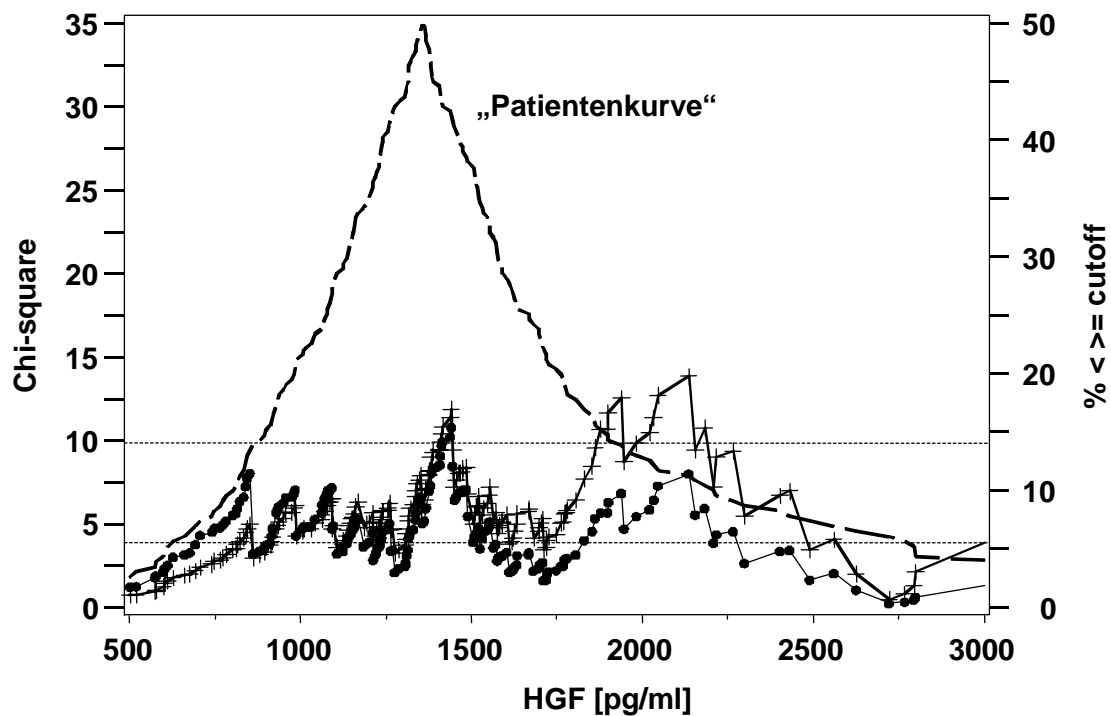


Abbildung 65: Güntige Prognosegruppe. Cut-Off Bestimmung für HGF. Endpunkt tumorbedingtes Versterben. Legende s. Abbildung 12.

3.2.2 Univariate Analyse

Anhand von Kaplan-Meier-Überlebenskurven wurde univariat analysiert, ob die Merkmale Prognosegruppe, Alter, Geschlecht, Lokalisation, Grading, Staging sowie die Tumormarker CEA, CA 19-9, CA 242, CA 72-4, CYFRA 21-1, hCG β , S100 und HGF Einfluss auf die Rezidivierung und auf das Überleben hatten (Tabelle 26, Tabelle 27).

Die Merkmale Alter und Geschlecht hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Rezidivierung und das Überleben.

Sowohl das Tumorigradung (Abbildung 67) als auch die Lokalisation (Abbildung 68) beeinflusste die Rezidivierungsrate (G1+2 vs. G3+4 $p=0.022$; Kolon vs. Rektum $p=0.024$), hatte aber keinen signifikanten Einfluss auf das Überleben.

Hinsichtlich der Prognosegruppe (Abbildung 66, Abbildung 81), der Tumordinfiltrationstiefe (Abbildung 69, Abbildung 82) und des Lymphknotenstatus (Abbildung 70, Abbildung 83) bestätigte sich auch in dieser Auswertung der bei Patientenkollektiv I festgestellte hochsignifikante Einfluss auf Rezidivierung und Überleben ($p<0.001$).

Im Folgenden werden die Ergebnisse der univariaten Analyse bezüglich der 8 Tumormarker beschrieben.

3.2.2.1 Rezidivierung

CEA

Erhöhte CEA-Werte (≥ 5 ng/ml) waren bei den 450 Patienten mit einem signifikant erhöhten Risiko für ein Rezidiv assoziiert ($p=0.012$, Tabelle 26). Bereits nach einem Jahr wurde bei 20% der Patienten in dieser Gruppe eine Progression festgestellt. Die entsprechende Kaplan-Meier-Kurve verlief im Vergleich zur Gruppe mit Werten unterhalb des Cut-Offs in diesem Zeitraum steiler. Nach einem Jahre zeichnete sich ein paralleler Verlauf beider Kurven ab. Der Unterschied hinsichtlich der Rezidivfreiheit lag dann konstant bei ca. 15% (Abbildung 71).

In den Untergruppen erreichte CEA nur innerhalb der ungünstigen Prognosegruppe Signifikanz ($p=0.035$, Tabelle 27, Abbildung 72).

CA 19-9

In der Auswertung des CA 19-9 unter Verwendung der beiden Cut-Off-Werte ergab sich zunächst kein signifikanter Einfluss auf die Rezidivierung (Tabelle 26). Eine erhöhte Freisetzung dieses Tumormarkers war erst nach Unterteilung in Prognosegruppen relevant. Die Patienten innerhalb der ungünstigen Prognosegruppe mit erhöhten CA 19-9-Werten (≥ 55 U/ml und ≥ 75 U/ml) hatten ein signifikant erhöhtes Risiko für ein Rezidiv ($p=0.017$ und $p=0.001$, Tabelle 27).

In der Kurvenanalyse zeigte sich ein massiver Abfall der Rezidivfreiheit innerhalb des ersten Jahres auf ca. 55 bzw. 45% bei Berücksichtigung der beiden Cut-Off-Werte. Nach ca. 2 Jahren zeichnete sich ein waagrechter Verlauf ohne weitere Zunahme der Rezidivierungsrate ab (Abbildung 73, Abbildung 74).

CA 242

Die CA 242-Werte der 450 Patienten beeinflussten signifikant das rezidivfreie Überleben ($p=0.004$, Tabelle 26). Die entsprechenden Kurven begannen kurz vor Ende des ersten Jahres nach Primärtherapie zu divergieren. Nach 3 Jahren sah man eine deutliche Zunahme der Kurvendivergenz. Die Rezidivrate lag bei 20% nach einem Jahr und bei 60% nach 4 Jahren bei den Patienten mit erhöhten präoperativen CA 242-Werten. Demgegenüber hatten Patienten mit Werten unterhalb des Cut-Offs eine Rezidivrate von 10 und 25% (Abbildung 75).

Innerhalb der Untergruppen erreichte CA 242 nur in der ungünstigen Prognosegruppe Signifikanz ($p=0.001$, Tabelle 27, Abbildung 76).

CA 72-4

Bei den 434 Patienten zeigte sich kein signifikanter Einfluss des CA 72-4 auf die Rezidivierung (Tabelle 26, Tabelle 27).

CYFRA 21-1

Erhöhte CYFRA 21-1-Werte waren bei den 433 Patienten nicht signifikant mit einer kürzeren rezidivfreien Zeit assoziiert (Tabelle 26, Tabelle 27).

hCG β

Die Rezidivierungsraten der Patienten mit hCG β -Werten unterhalb und oberhalb des Cut-Offs unterschieden sich nicht signifikant (Tabelle 26, Tabelle 27).

S100

Die Höhe der S100-Freisetzung hatte einen signifikanten Einfluss auf die Rezidivierung ($p < 0.001$). Im Unterschied zu den anderen Tumormarkern korrelierten beim S100 niedrige Werte mit einem kürzeren bzw. hohe Werte mit einem längeren rezidivfreien Intervall ($p < 0.001$, Tabelle 26).

Eine Kurvendivergenz zeichnete sich kurz vor Ende des ersten Jahres nach der Primärtherapie ab und nahm im Verlauf bis zum 5. Jahr weiter zu. Ab da verliefen beide Kurven parallel und annähernd waagrecht. Die Rezidivierungshäufigkeit der Gruppe unterhalb und oberhalb des Cut-Offs unterschied sich nach 2 Jahren um ca. 10% nach 5 Jahren um ca. 20% (Abbildung 77).

Innerhalb der Untergruppen war S100 der einzige Tumormarker, der in der günstigen Prognosegruppe signifikant ($p < 0.001$) blieb. In der ungünstigen Prognosegruppe erreichte er keine Relevanz (Tabelle 27, Abbildung 78).

HGF

Erhöhte HGF-Werte waren bei den 405 Patienten signifikant mit einem erhöhten Risiko für ein Rezidiv verbunden ($p = 0.001$, Tabelle 26). Die Kurve der Patienten mit niedrigen HGF-Werten fiel in den ersten 5 Jahren gleichmäßig ab. Der Kurvenverlauf der Patienten mit erhöhten Werten war zunächst steil und flachte nach dem ersten Jahr wieder ab.

90% der Gruppe unterhalb gegenüber 75% der Gruppe oberhalb des Cut-Offs waren nach einem Jahr noch rezidivfrei. Der Anteil der Patienten mit einem krankheitsfreien Status nahm

in beiden Gruppen weiter ab und betrug nach 4 Jahren 75 und 55% (Abbildung 79).

Nach der Gruppierung blieb HGF nur bei Patienten signifikant, die der ungünstigen Prognosegruppe zugeteilt wurden ($p=0.016$, Tabelle 27, Abbildung 80).

Tabelle 26: Univariate Analyse des rezidivfreien Überlebens und des Überlebens

	<i>p</i> (χ^2 ; <i>df</i>)	
	Alle (n=450)	
	DFS	OTS
Prognosegruppe (GPG vs UPG)	<0.001 (29.0)	<0.001 (15.2)
Alter (<65 J. vs. \geq 65 J.)	NS	NS
Geschlecht	NS	NS
Grading (G1+2 vs G3+4)	0.022 (5.2)	NS
Lokalisation (Rektum vs. Kolon)	0.024 (5.1)	NS
Tumordinfiltrationstiefe T	<0.001 (22.8; 3)	0.001 (15.6; 3)
Lymphknotenstatus N	<0.001 (80.3; 2)	<0.001 (72.7; 2)
CEA \geq 5 ng/ml	0.012 (6.3)	0.004 (8.2)
CA 19-9 \geq 55 U/ml	NS	NS
CA 19-9 \geq 75 U/ml	NS	0.014 (6.0)
CA 242 \geq 45 ng/ml	0.004 (8.2)	0.004 (8.1)
CA 72-4 \geq 8 ng/ml	NS	0.010 (6.6)
CYFRA 21-1	NS	NS
hCG β \geq 1.6 pmol/l	NS	NS
S100 \geq 0.03 ng/ml	<0.001 (12)	<0.001 (12.0)
HGF \geq 1900 pg/ml	0.001 (10.5)	<0.001 (22.9)

χ^2 = log-rank χ^2 , *df* = Freiheitsgrade (Angabe nur bei *df*>1), DFS= rezidivfreies Überleben, OTS= tumorbedingtes Versterben, NS= nicht signifikant ($p>0.05$), GPG= günstige Prognosegruppe, UPG= ungünstige Prognosegruppe

Tabelle 27: Univariate Analyse des rezidivfreien Überlebens (DFS; Endpunkt Rezidivierung) und des Überlebens (OTS; Endpunkt tumorbedingtes Versterben) in den beiden Prognosegruppen (GPG und UPG)

	<i>p</i> (χ^2 ; <i>df</i>)			
	GPG (n=260)		UPG (n=190)	
	DFS	OTS	DFS	OTS
Grading (G1+2 vs G3+4)	NS	NS	NS	NS
Lokalisation (Rektum vs. Kolon)	NS	NS	NS	NS
Tumordinfiltrationstiefe T	0.023 (9.5; 3)	0.018 (10.0; 3)	0.050 (7.8; 3)	NS
Lymphknotenstatus N	-	-	<0.001 (34.8; 2)	<0.001 (37.2; 2)
CEA \geq 5 ng/ml	NS	0.026 (5.0)	0.035 (4.5)	NS
CA 19-9 \geq 55 U/ml	NS	NS	0.017 (5.7)	0.009 (6.9)
CA 19-9 \geq 75 U/ml	NS	NS	0.001 (10.4)	<0.001 (20.5)
CA 242 \geq 45 ng/ml	NS	NS	0.001 (10.3)	0.006 (7.7)
CA 72-4 \geq 8 ng/ml	NS	NS	NS	0.003 (8.6)
CYFRA 21-1	NS	NS	NS	NS
hCG β \geq 1.6 pmol/l	NS	NS	NS	NS
S100 \geq 0.03 ng/ml	<0.001 (12.9)	<0.001 (11.8)	NS	NS
HGF \geq 1900 pg/ml	NS	<0.001 (11.7)	0.016 (5.8)	0.001 (10.4)

χ^2 = log-rank χ^2 ; *df* = Freiheitsgrade (Angabe nur bei *df*>1), NS= nicht signifikant (*p*>0.05), GPG = günstige Prognosegruppe, UPG = ungünstige Prognosegruppe

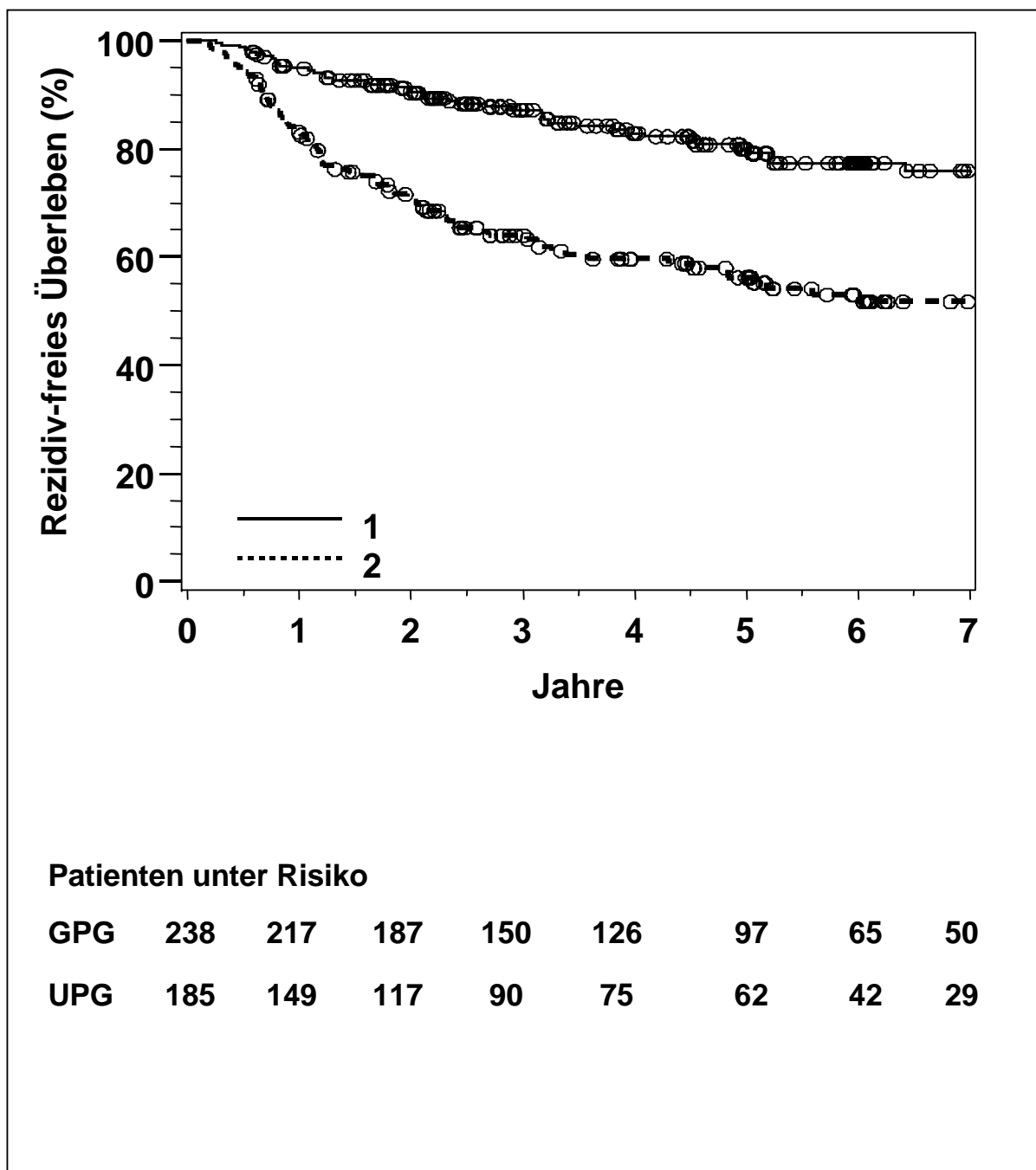


Abbildung 66: Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich der Prognosegruppe. 1: günstige Prognosegruppe (GPG), 2: ungünstige Prognosegruppe (UPG). N=423, $p < 0.001$.

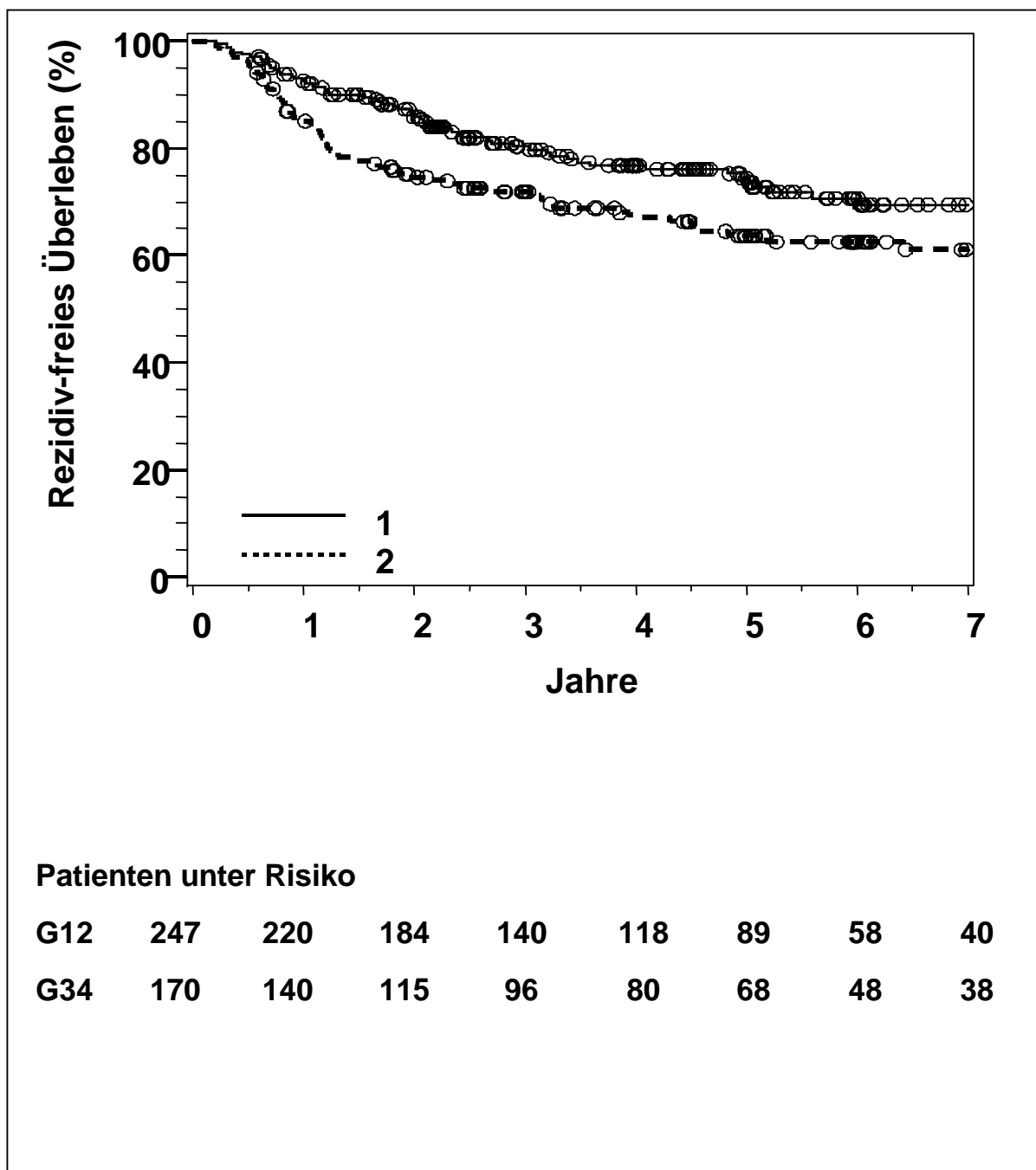


Abbildung 67: Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich des Gradings.
 1: G1+G2; 2: G3+G4. N=417, p=0.022.

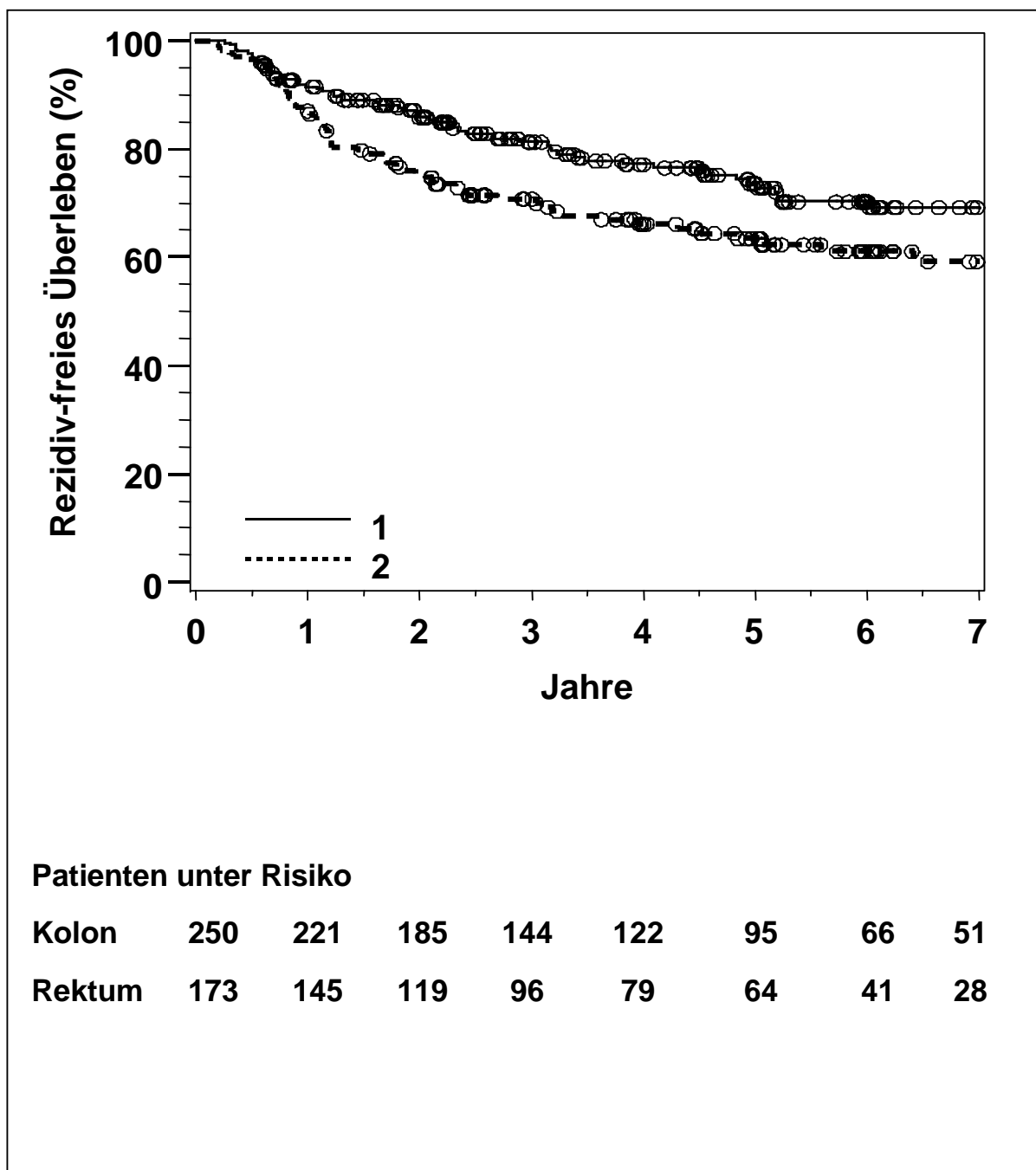


Abbildung 68: Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich der Tumorlokalisation. 1: Kolon; 2: Rektum. N=423, $p < 0.001$.

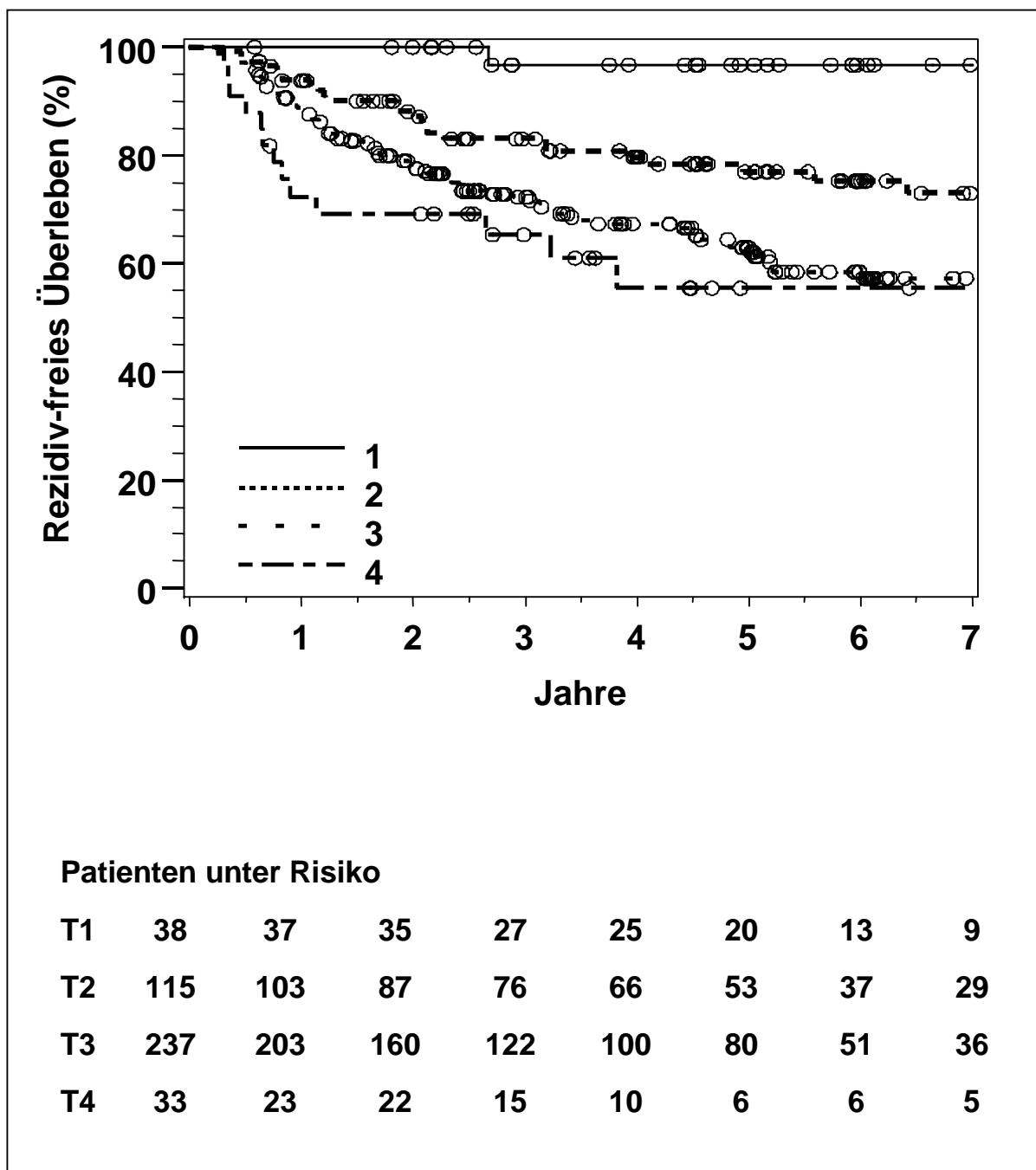


Abbildung 69: Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich der Tumorinfiltrationstiefe. 1: T1; 2: T2; 3: T3; 4: T4. N=423, $p < 0.001$.

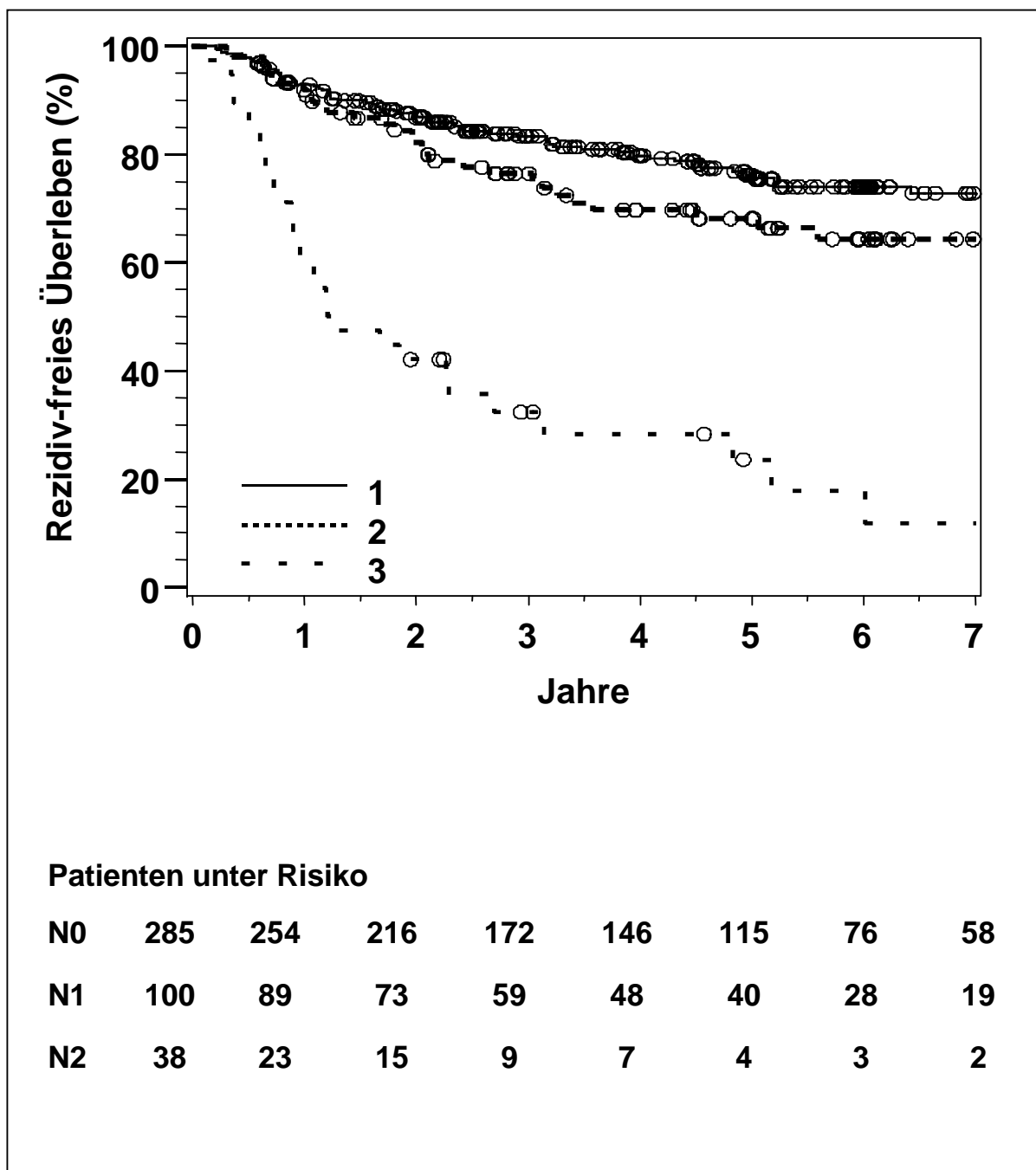


Abbildung 70: Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich des Lymphknotenstatus. 1: N0; 2: N1; 3: N2. N=423, $p < 0.001$.

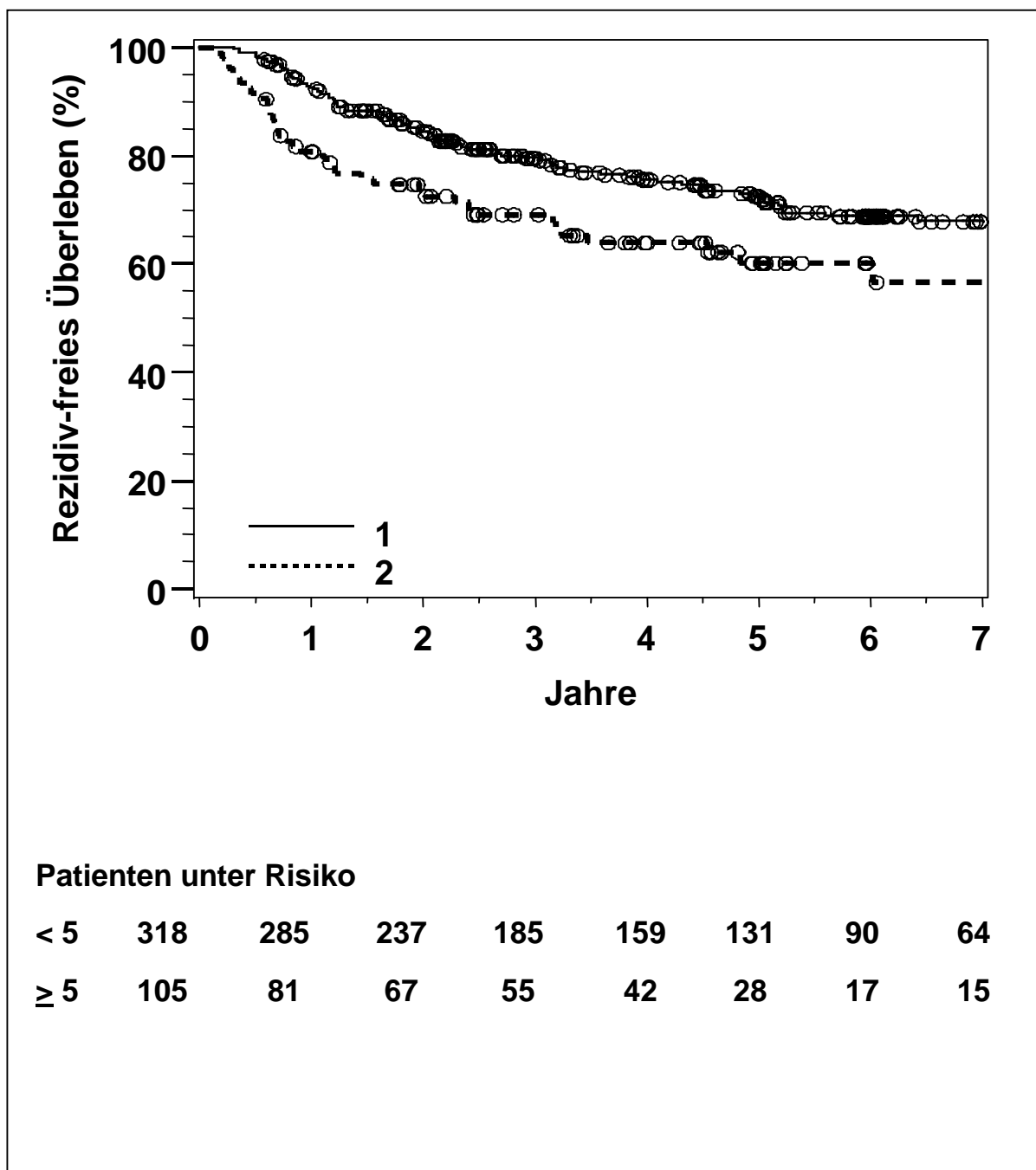


Abbildung 71: Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich der präoperativen CEA-Werte. 1: CEA < 5 ng/ml; 2: CEA ≥ 5 ng/ml. N=423, p=0.012.

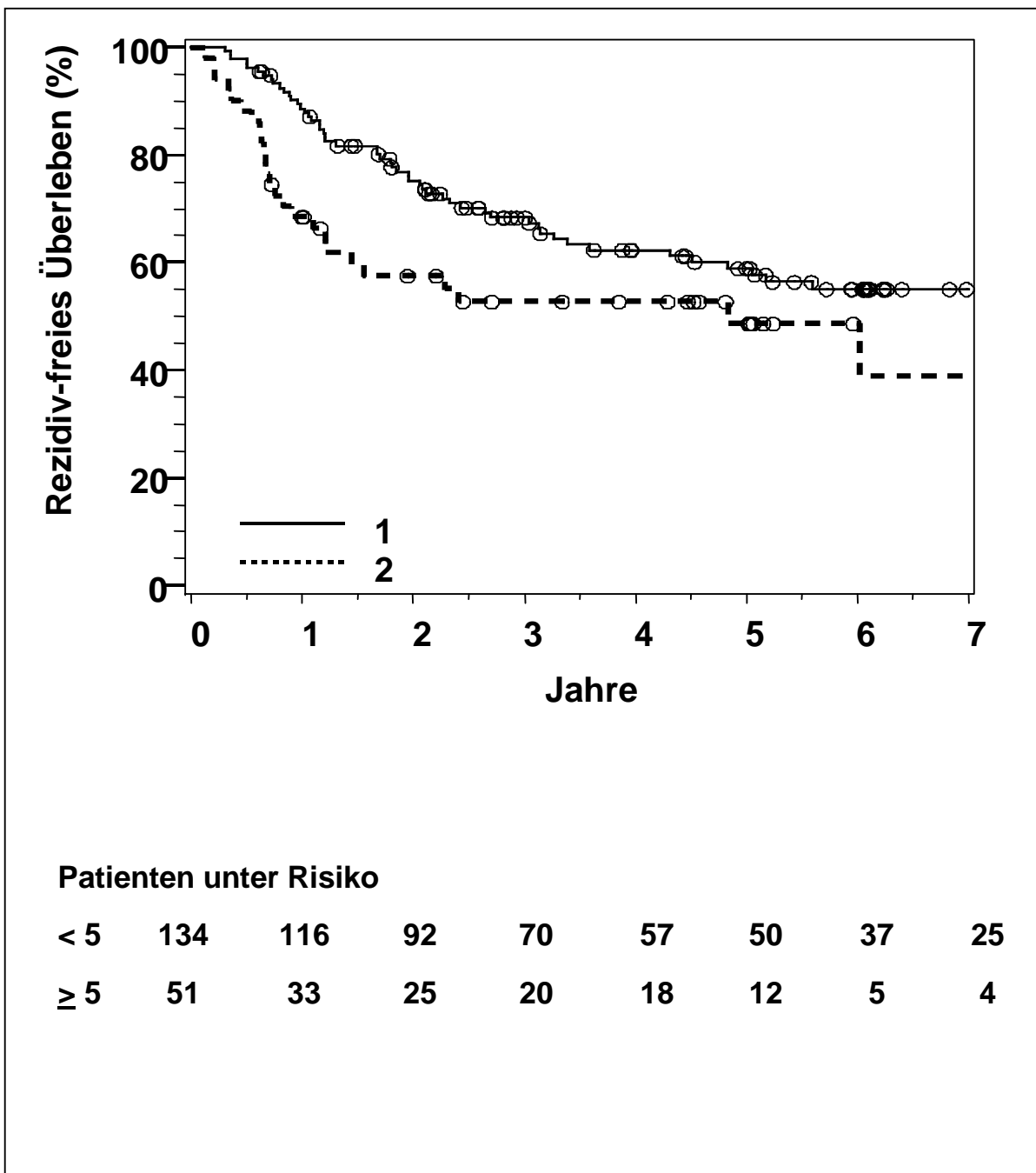


Abbildung 72: Ungünstige Prognosegruppe. Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich der präoperativen CEA-Werte. 1: CEA < 5 ng/ml; 2: CEA ≥ 5 ng/ml. N=185, p=0.035.

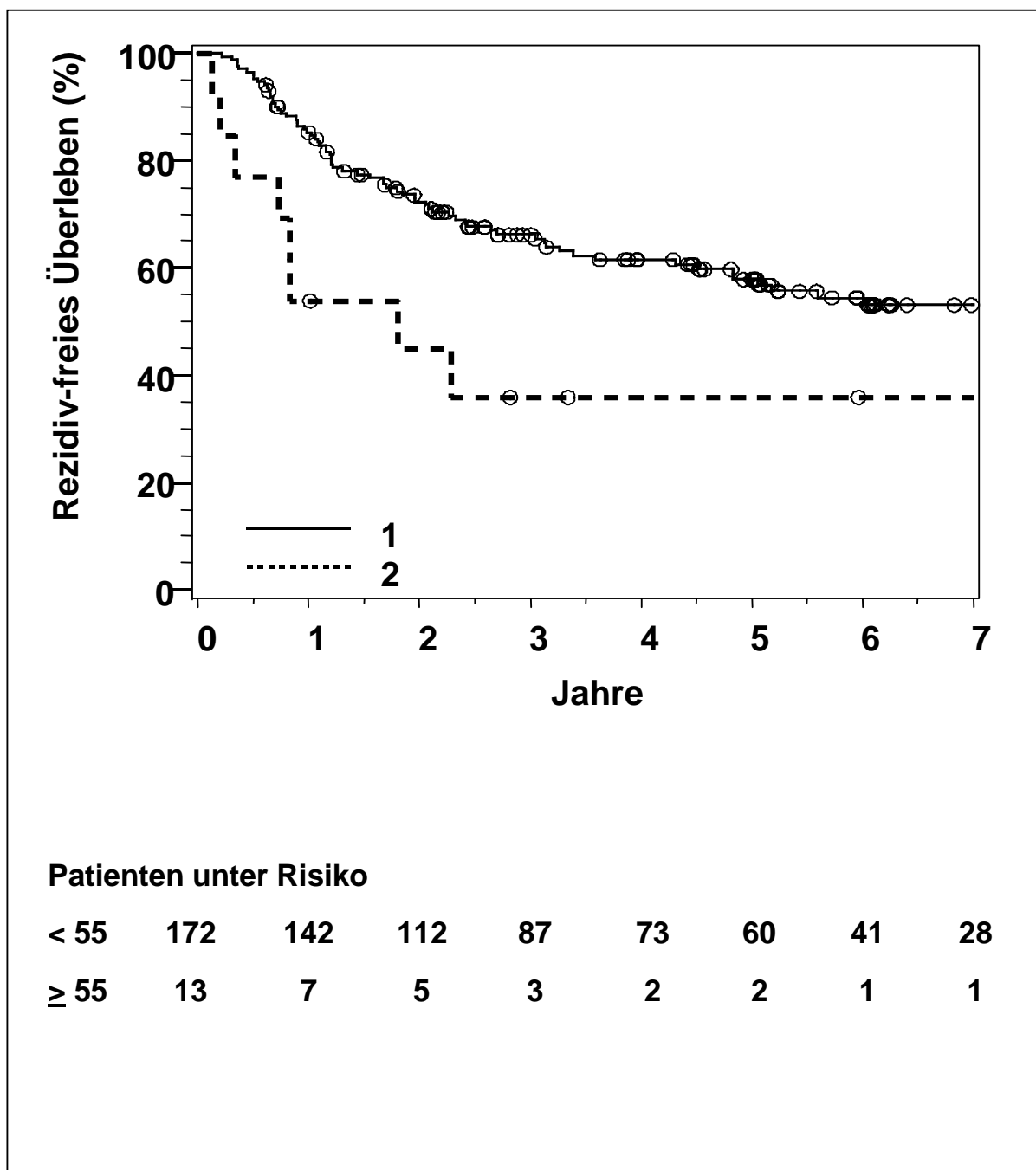


Abbildung 73: Ungünstige Prognosegruppe. Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich der präoperativen CA 19-9-Werte. 1: CA 19-9 < 55 U/ml; 2: CA 19-9 ≥ 55 U/ml. N=185, p=0.017.

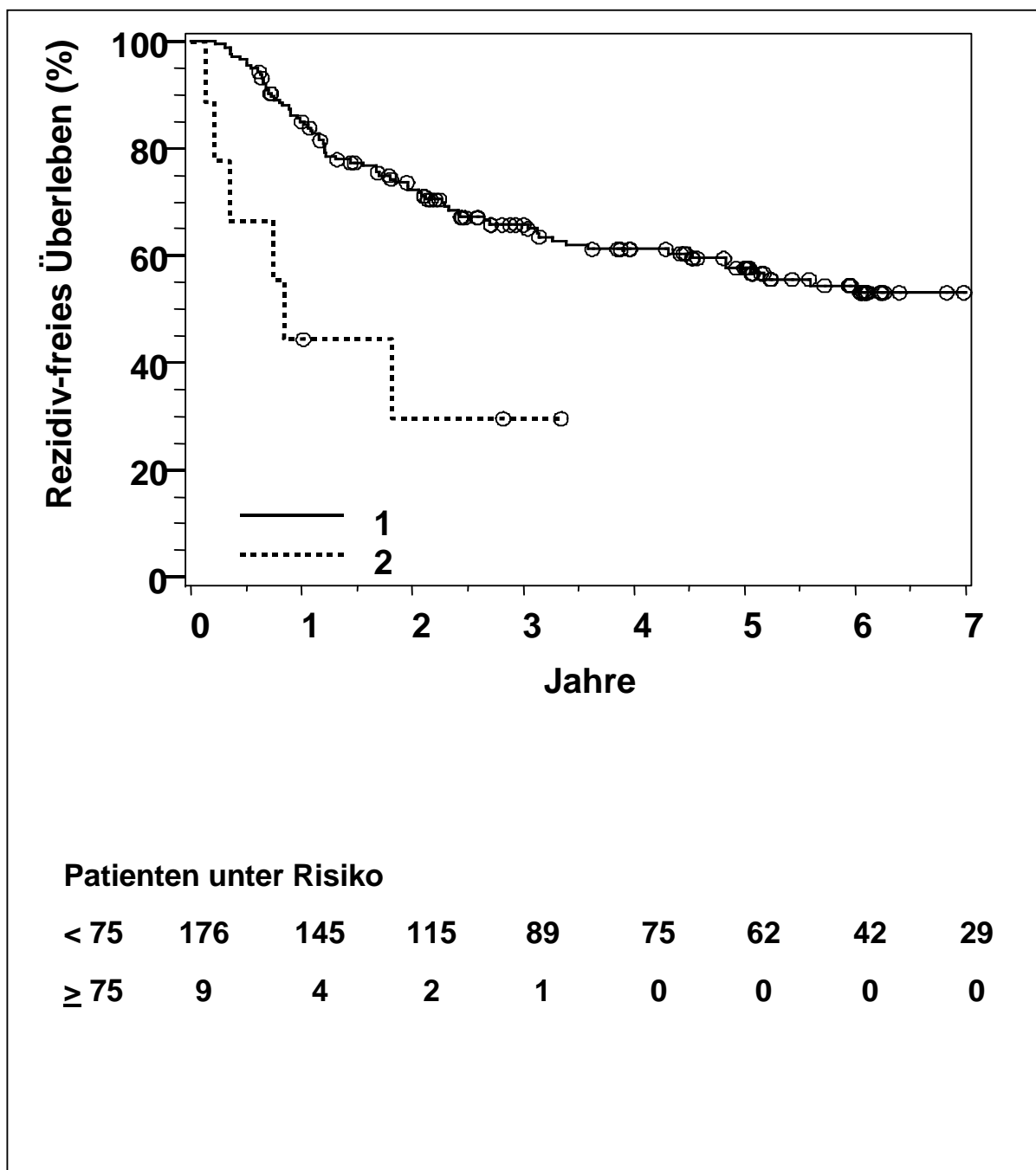


Abbildung 74: Ungünstige Prognosegruppe. Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich der präoperativen CA 19-9-Werte. 1: CA 19-9 < 75 U/ml; 2: CA 19-9 ≥ 75 U/ml. N=185, p=0.001.

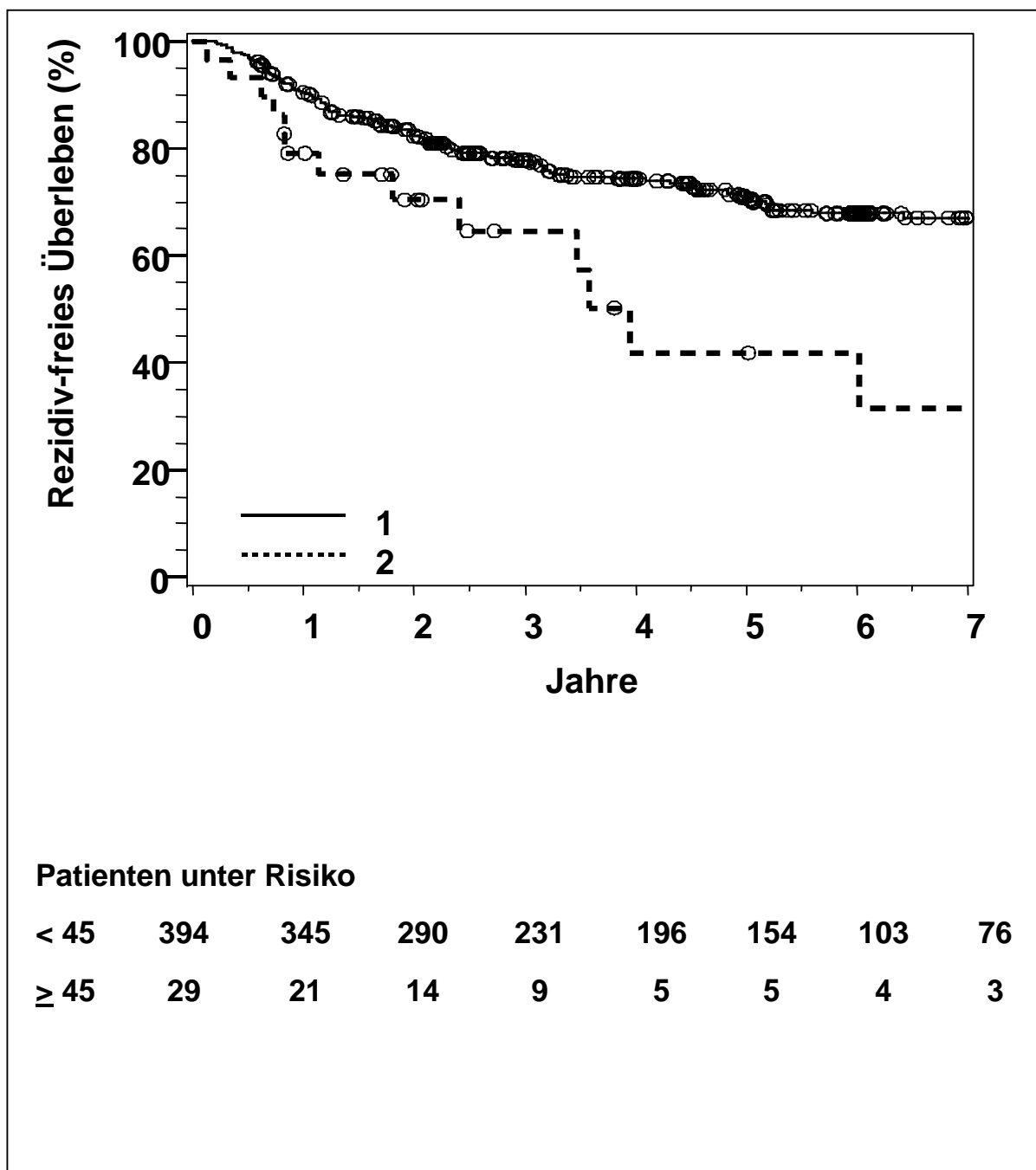


Abbildung 75: Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich der präoperativen CA 242-Werte. 1: CA 242 < 45 ng/ml; 2: CA 242 ≥ 45 ng/ml. N=423, p=0.004.

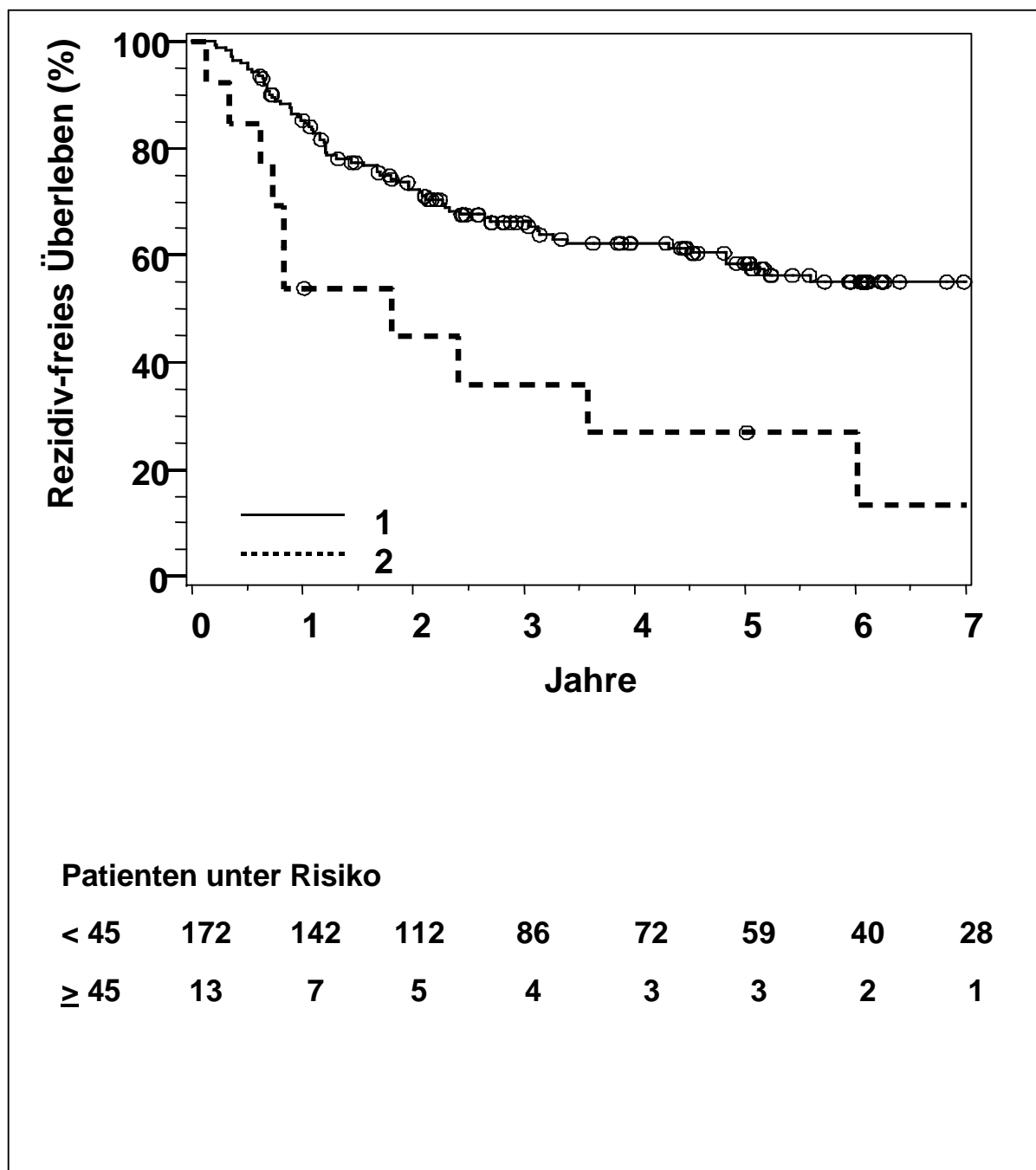


Abbildung 76: Ungünstige Prognosegruppe. Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich der präoperativen CA 242-Werte. 1: CA 242 < 45 ng/ml; 2: CA 242 ≥ 45 ng/ml. N=185, p=0.001.

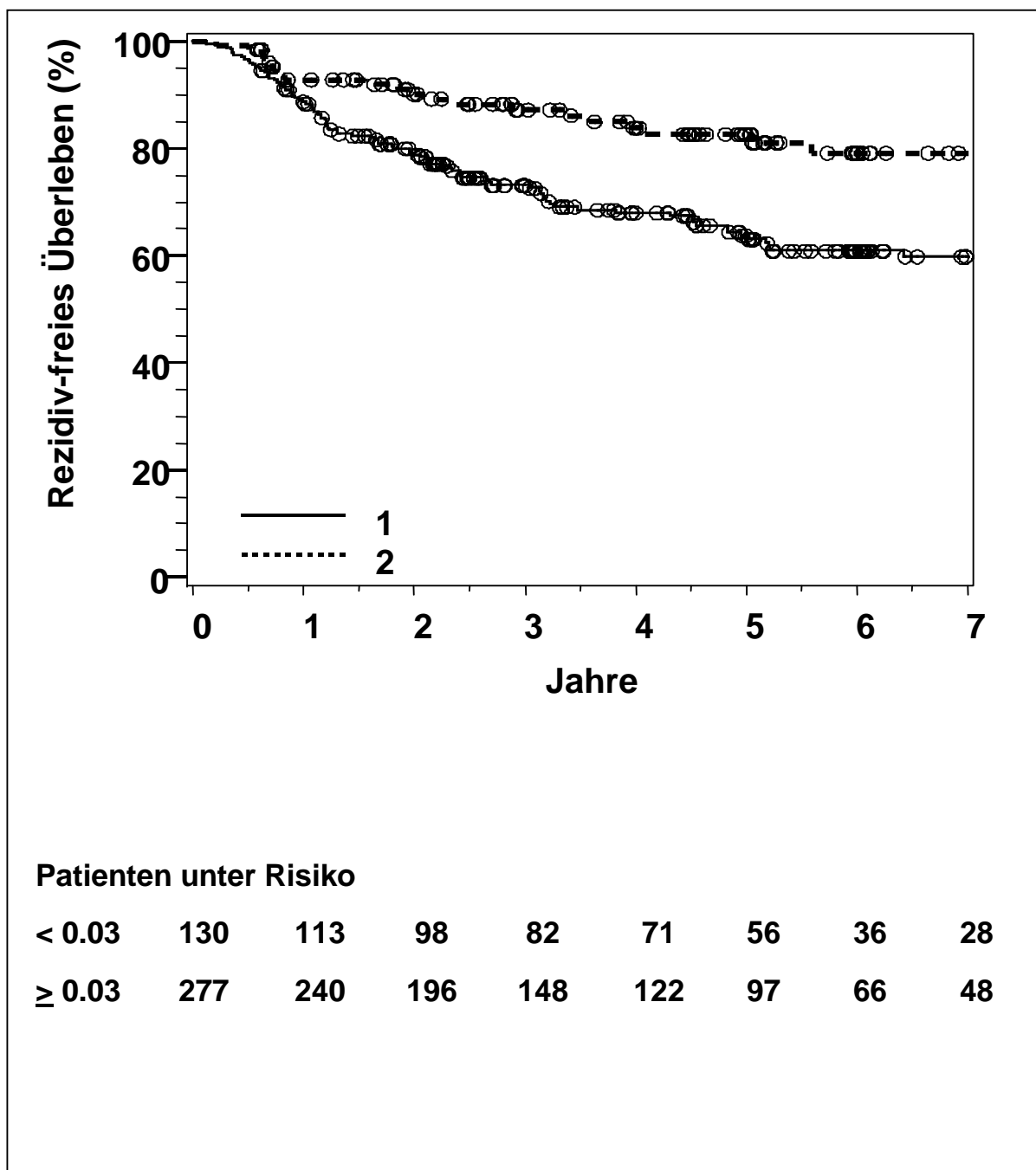


Abbildung 77: Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich der präoperativen S100-Werte. 1: S100 < 0.03 ng/ml; 2: \geq 0.03 ng/ml. N=407, $p < 0.001$.

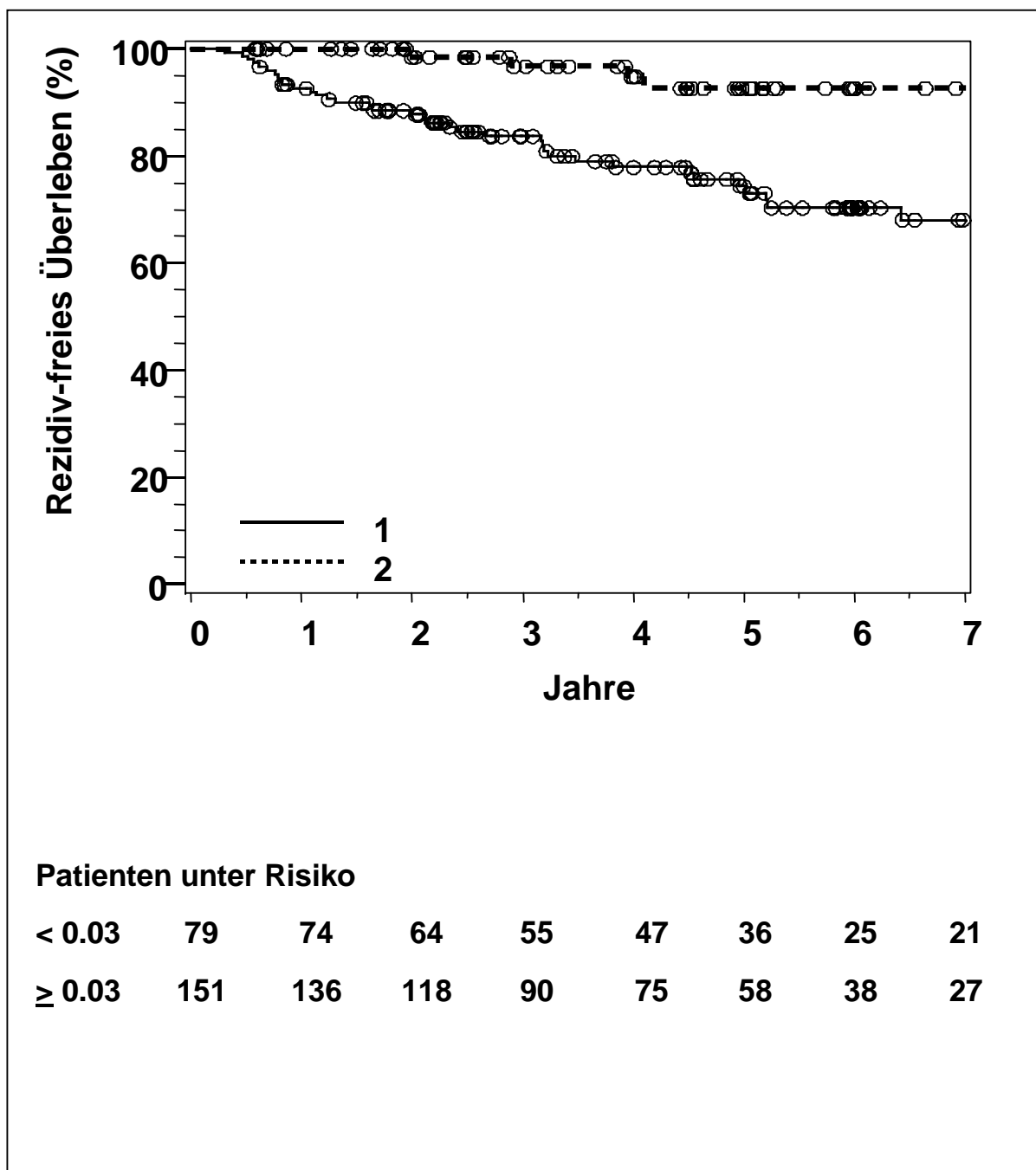


Abbildung 78: Günstige Prognosegruppe. Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich der präoperativen S100-Werte. 1: S100 < 0.03 ng/ml; 2: \geq 0.03 ng/ml. N=230, $p < 0.001$.

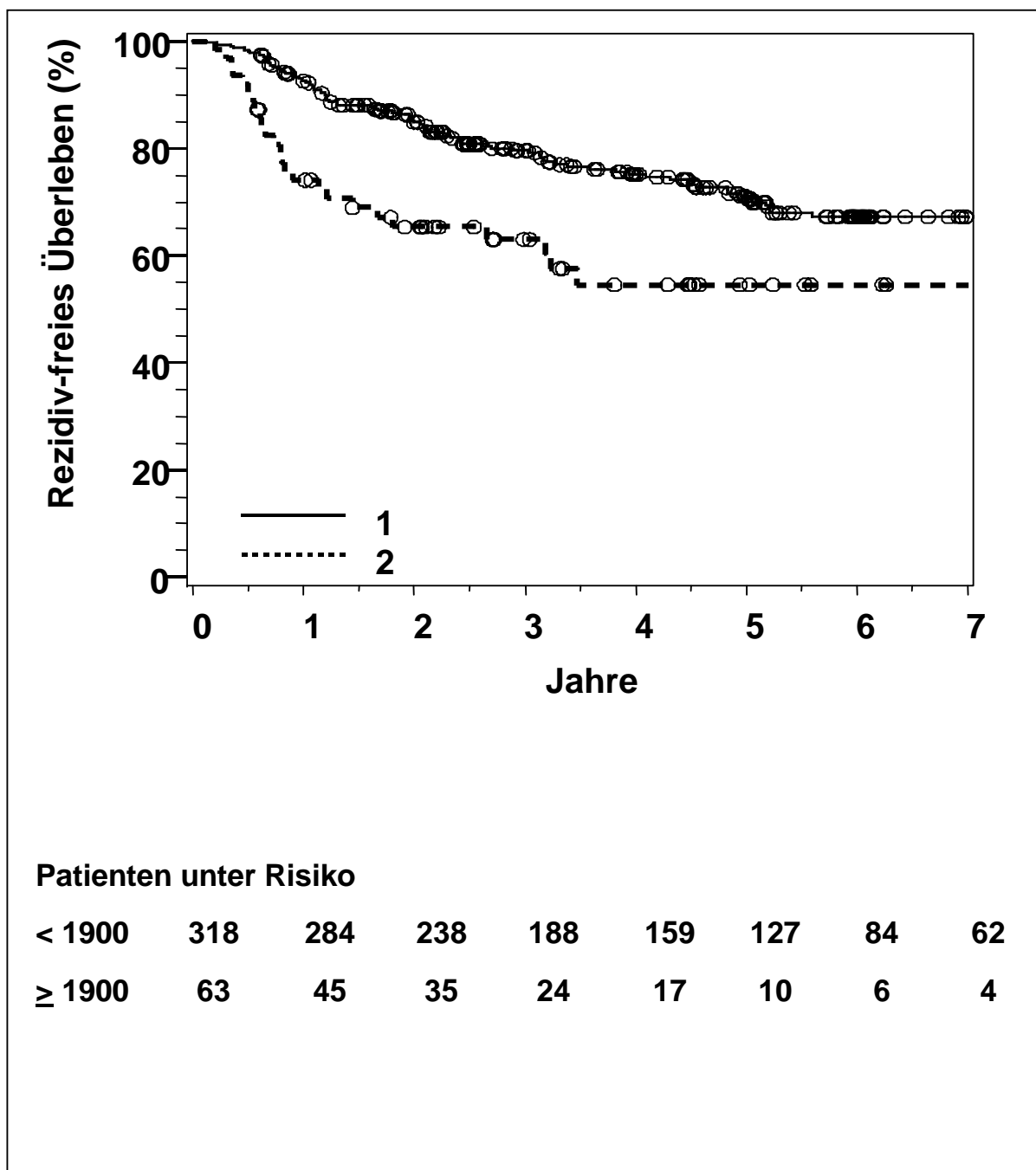


Abbildung 79: Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich der präoperativen HGF-Werte. 1: HGF < 1900 pg/ml; 2: HGF ≥ 1900 pg/ml. N=381, p=0.001.

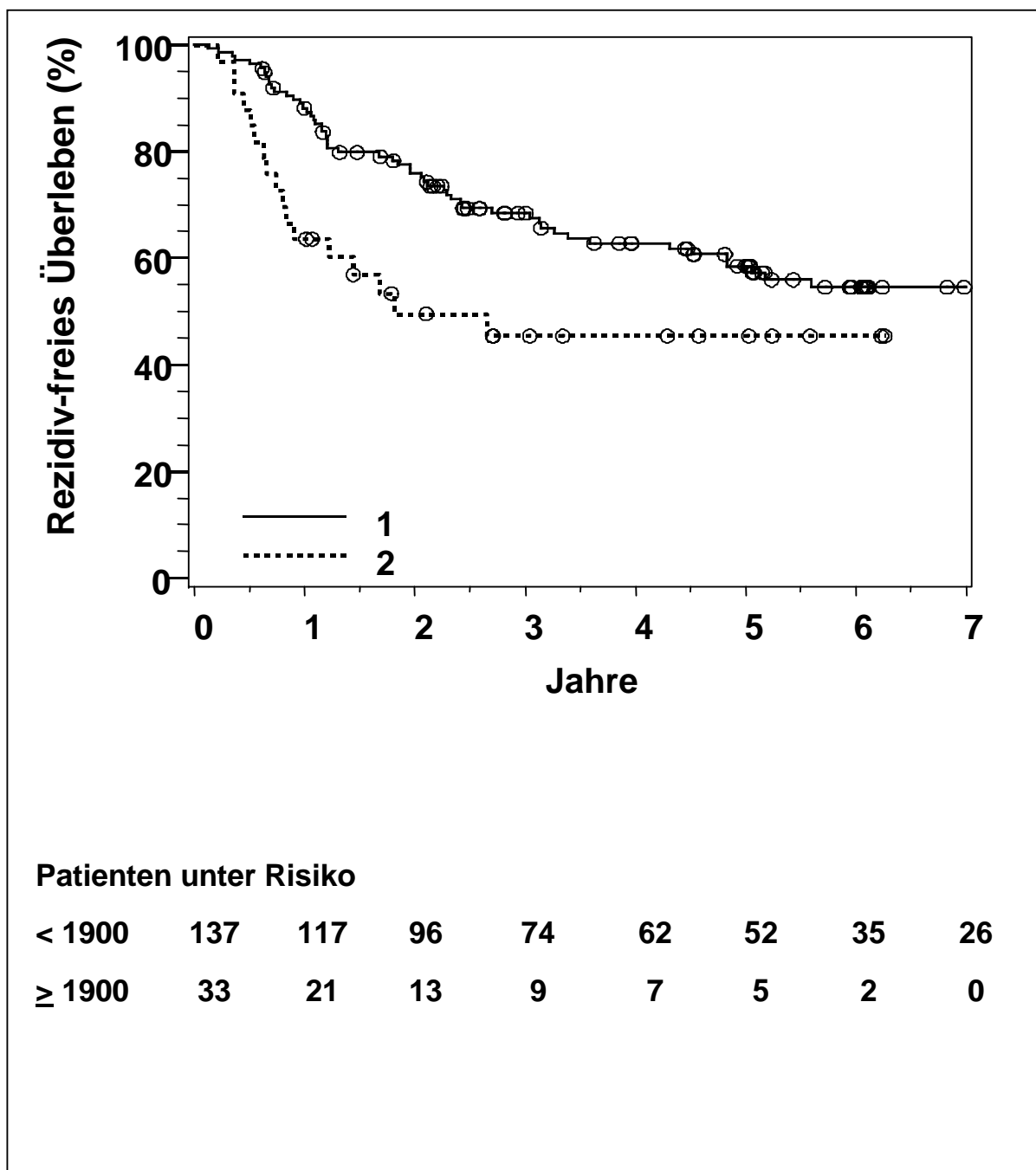


Abbildung 80: Ungünstige Prognosegruppe. Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bezüglich der präoperativen HGF-Werte. 1: HGF < 1900 pg/ml; 2: HGF ≥ 1900 pg/ml. N=170, p=0.016.

3.2.2.2 Überleben

CEA

Erhöhte CEA-Werte waren signifikant mit einem erhöhten Risiko tumorbedingt zu versterben verbunden ($p=0.004$, Tabelle 26). In der Kurvenanalyse fand sich ab dem zweiten Jahr nach Primärtherapie eine gleichmäßig zunehmende Kurvendivergenz, die nach ca. 5 Jahren ihr Maximum erreicht hatte. Die Unterschiede hinsichtlich der Rezidivierungsrate in den Gruppen unterhalb und oberhalb des Cut-Offs lagen nach 2 Jahren bei ca. 5% und nach 5 Jahren bei ca. 15% (Abbildung 84).

In der getrennten Auswertung blieb CEA nur in der günstigen Prognosegruppe signifikant ($p=0.026$, Tabelle 27, Abbildung 85).

CA 19-9

Das Risiko tumorbedingt zu versterben war nur bei den Patienten erhöht, die CA 19-9-Werte oberhalb des höheren Cut-Offs hatten (>75 U/ml; $p=0.014$, Tabelle 26).

In der Gruppe unterhalb des Grenzwerts fiel die Überlebenskurve im Verlauf gleichmäßig ab. Die Kurve der anderen Gruppe divergierte innerhalb des ersten Jahres und verlief bis zum dritten Jahr steiler. In den Jahren 2-4 sowie in den Jahren 5-7 verlief die Überlebenskurve waagrecht. Zwischen diesen Zeitintervallen fand sich ein abrupter senkrechter Kurvenabfall, der einer Abnahme der Überlebensrate von ca. 10% entsprach (Abbildung 86).

Durch die niedrige Fallzahl der Patienten mit Werten > 75 U/ml war die prognostische Aussagekraft vor allem mit zunehmender Beobachtungsdauer limitiert.

Innerhalb der ungünstigen Prognosegruppe ergaben sich signifikante Zusammenhänge zwischen CA 19-9 und Überleben bei beiden Cut-Off-Werten (Tabelle 27, Abbildung 87, Abbildung 88). In der günstigen Prognosegruppe hatte CA 19-9 keine Relevanz.

CA 242

Die Höhe der CA 242-Werte beeinflusste signifikant die Überlebensdauer ($p=0.004$, Tabelle 26).

Während sich in den ersten 2 Jahren nach Primärtherapie nur geringe Unterschiede hinsichtlich der Überlebensrate in den Gruppen unterhalb und oberhalb des Cut-Offs fanden, so divergierte diese zunehmend ab dem 3. Jahr. Nach 5 Jahren waren ca. 40% der Patienten mit erhöhten und ca. 20% der Patienten mit normalen CA 242-Werten tumorbedingt verstorben (Abbildung 89).

Nach der Gruppierung erreichte CA 242 nur in der ungünstigen Prognosegruppe Signifikanz ($p=0.006$, Tabelle 27, Abbildung 90).

CA 72-4

Zwischen erhöhten CA 72-4-Werten und frühem tumorbedingtem Versterben wurde ein signifikanter Zusammenhang gefunden ($p=0.010$, Tabelle 26). Die entsprechenden Überlebenskurven divergierten frühzeitig und im Verlauf bis zum Zeitpunkt 4 Jahre nach Primärtherapie geringfügig zunehmend. Nach 5 Jahren waren ca. 35% der Patienten mit erhöhten und ca. 15% der Patienten mit normalen CA 72-4-Werten tumorbedingt verstorben (Abbildung 91).

Ein signifikanter Zusammenhang zwischen CA 242 und Überleben ergab sich nach getrennter Auswertung nur in der ungünstigen Prognosegruppe ($p=0.003$, Tabelle 27, Abbildung 92)

CYFRA 21-1

CYFRA 21-1 hatte keinen signifikanten Einfluss auf das Überleben.

hCG β

In dieser Auswertung hatte hCG β keine prognostische Relevanz.

S100

Die Höhe der S100-Freisetzung hatte einen signifikanten Einfluss auf das Überleben ($p<0.001$, Tabelle 26). Die Überlebenskurven verliefen im Vergleich zur Rezidivierung weniger steil und divergierten erst nach 2 Jahren. Nach 5 Jahren waren ca. 25% der Gruppe unterhalb gegenüber 10% der Gruppe oberhalb des Cut-Offs tumorbedingt verstorben (Abbildung 93).

S100 war nach getrennter Auswertung nur innerhalb der günstigen Prognosegruppe relevant ($p<0.001$, Tabelle 27, Abbildung 94).

HGF

Der signifikante Einfluss des HGF auf das Überleben zeigte sich in den Kaplan-Meier-Kurven in Form einer zunehmenden Divergenz nach einem Jahr und eines steileren Kurvenverlaufs bei der Gruppe oberhalb im Vergleich zur Gruppe unterhalb des Cut-Offs.

Ab dem 6.Jahr nach Primärtherapie betrug die Überlebensrate der Patienten mit erhöhten

HGF-Werten annähernd 40% und blieb im Verlauf ohne weitere Veränderung (Tabelle 26, Abbildung 95).

In der getrennten Auswertung blieb HGF in beiden Prognosegruppen signifikant (Tabelle 27; GPG= $p < 0.001$, Abbildung 96; UPG= $p = 0.001$, Abbildung 97).

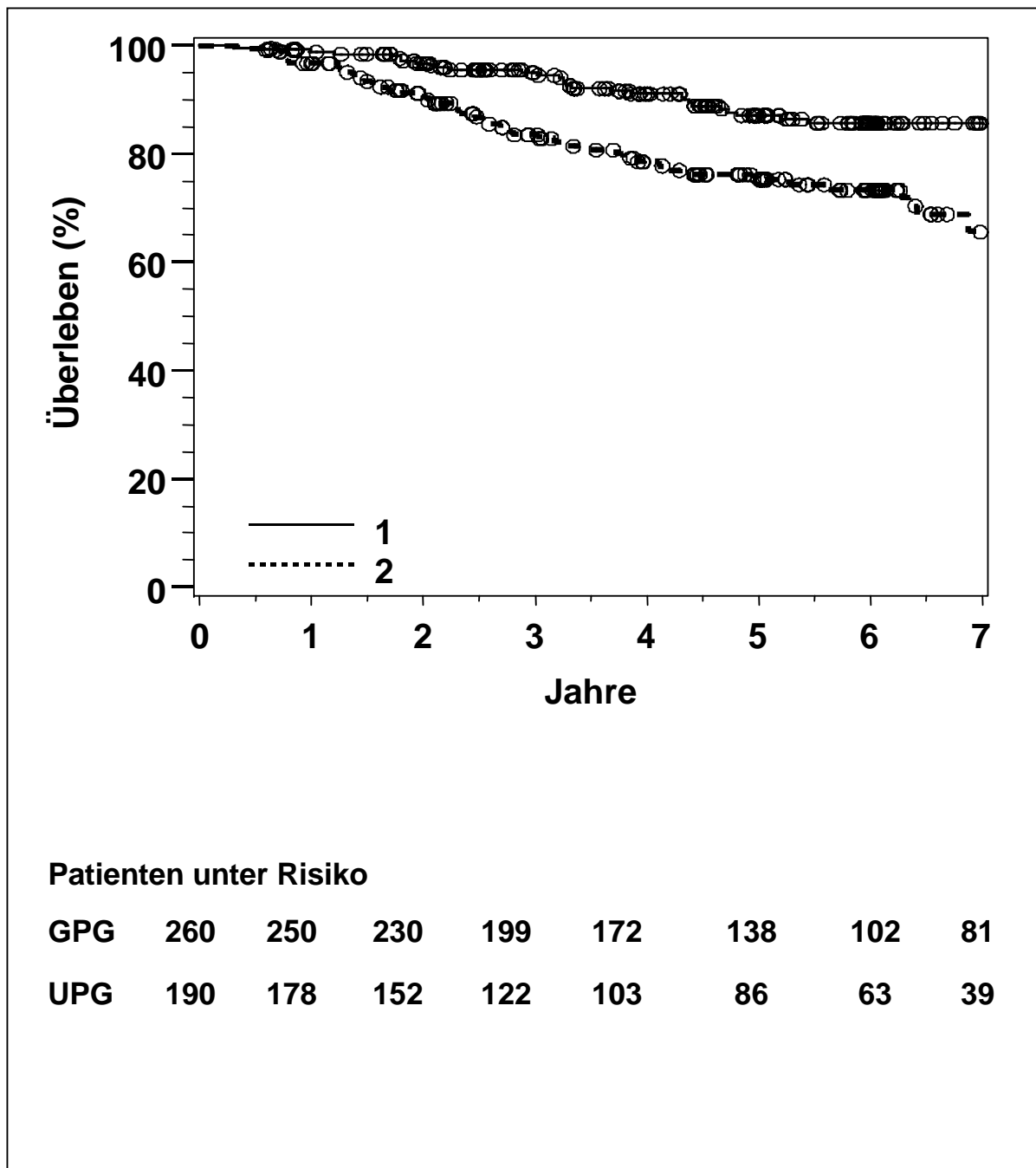


Abbildung 81: Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der Prognosegruppe. 1: günstige Prognosegruppe (GPG), 2: ungünstige Prognosegruppe (UPG). $N=450$, $p < 0.001$.

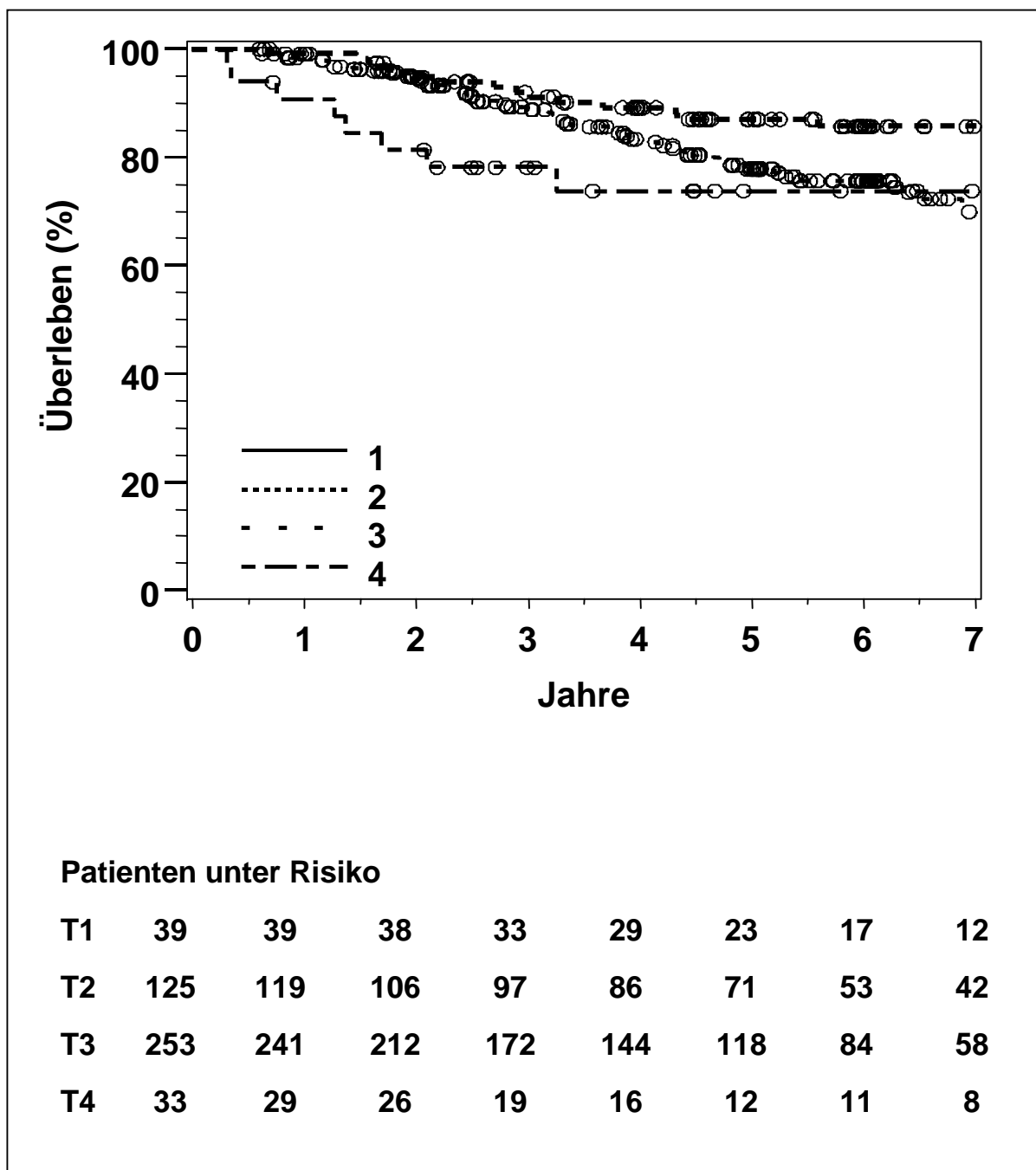


Abbildung 82: Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der Tumordinfiltrationstiefe.
1: T1; 2: T2; 3: T3; 4: T4. N=450, p=0.001.

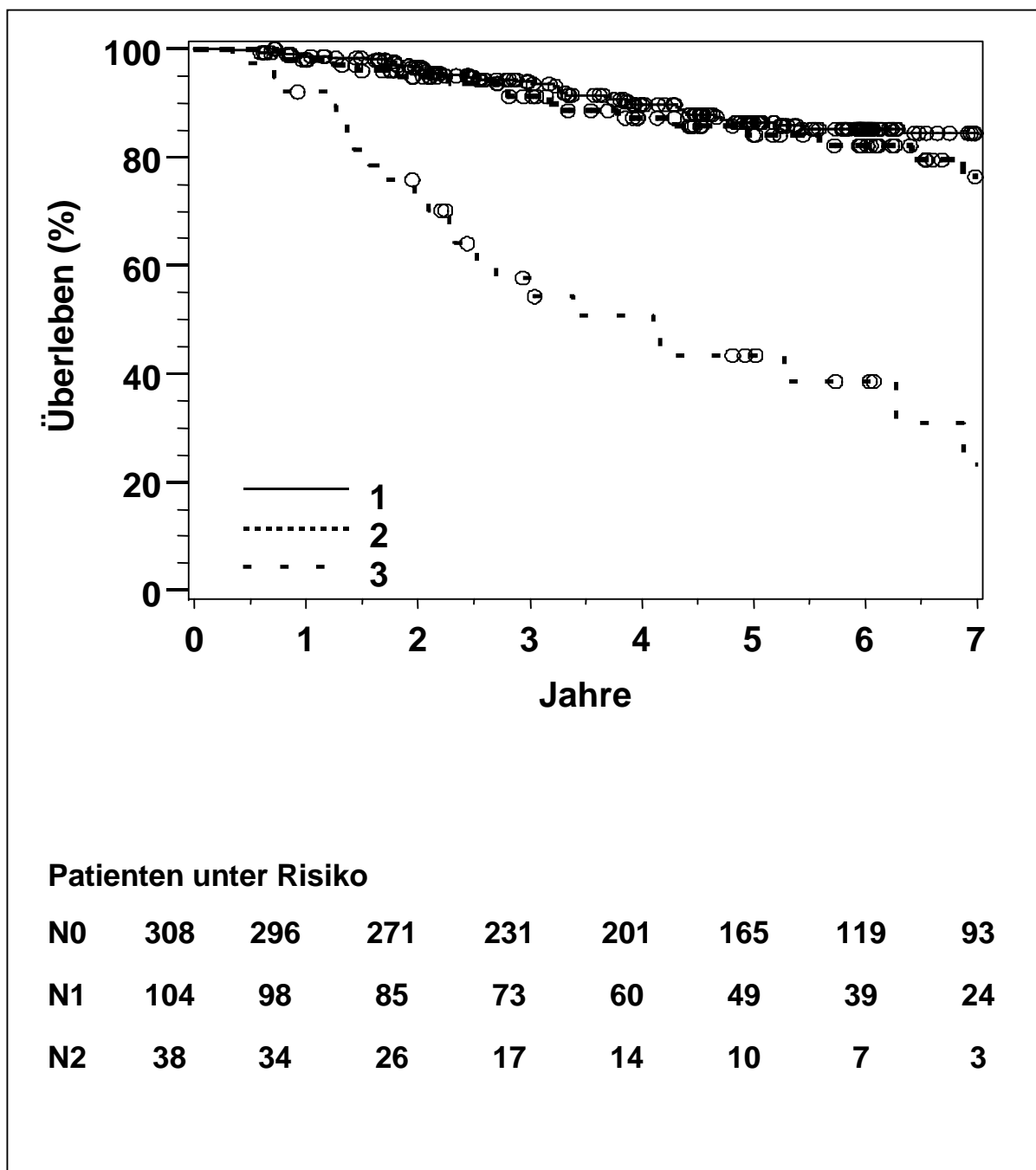


Abbildung 83: Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich des Lymphknotenstatus. 1: N0; 2: N1; 3: N2. N=450, $p < 0.001$.

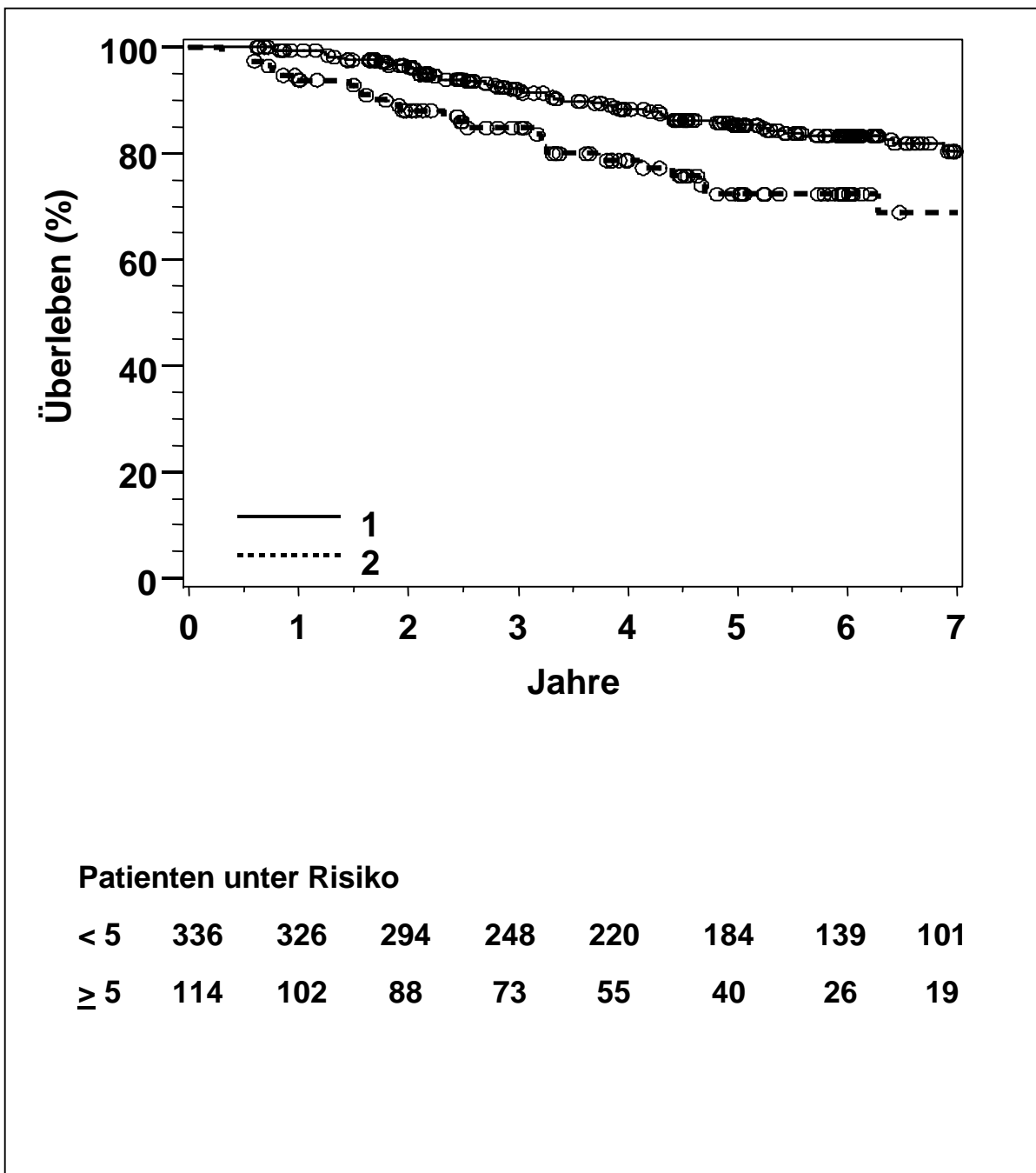


Abbildung 84: Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der präoperativen CEA-Werte. 1: CEA < 5 ng/ml; 2: CEA ≥ 5 ng/ml. N=450, p=0.004.

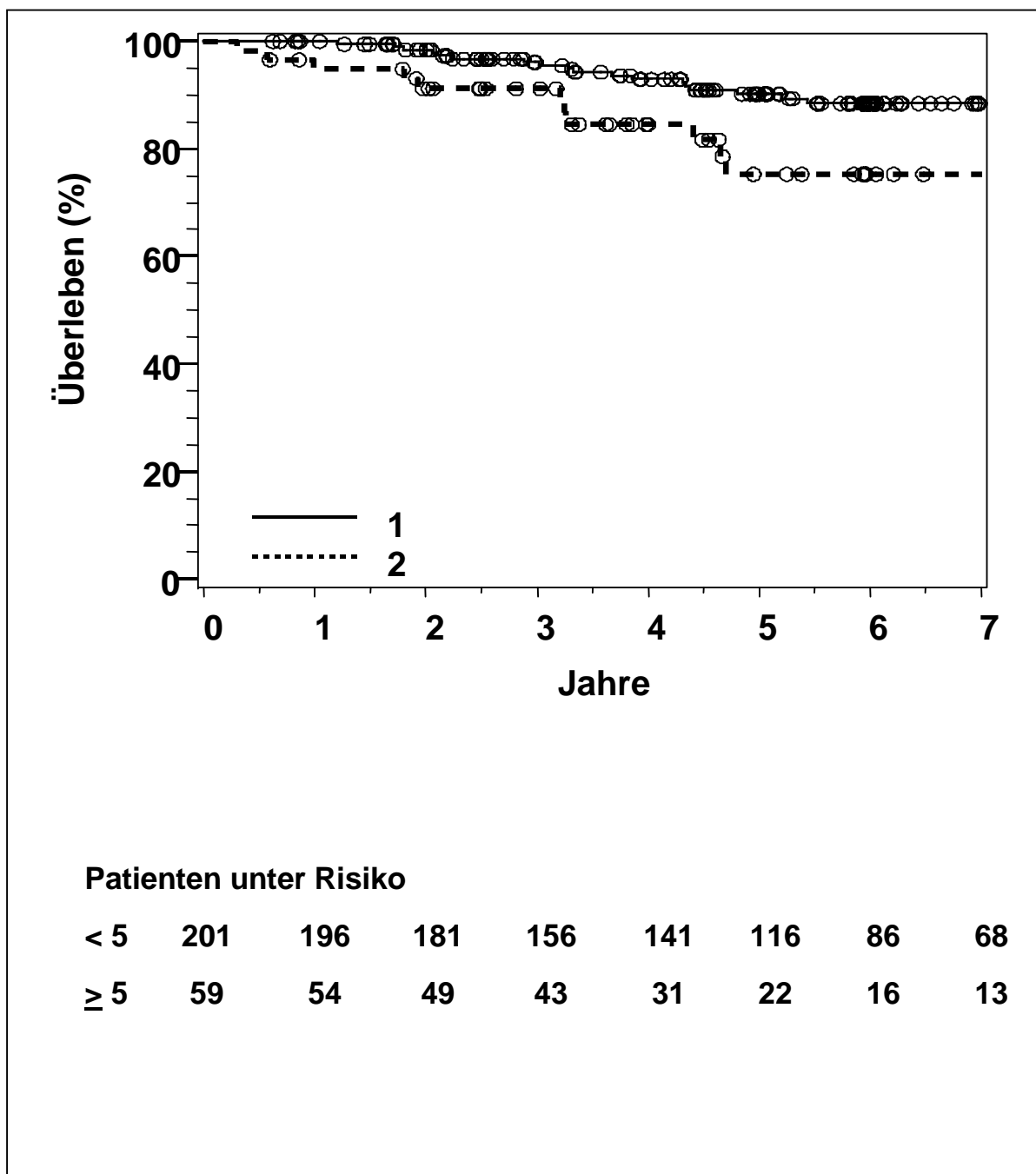


Abbildung 85: Günstige Prognosegruppe. Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der präoperativen CEA-Werte. 1: CEA < 5 ng/ml; 2: CEA ≥ 5 ng/ml. N=260, p=0.026.

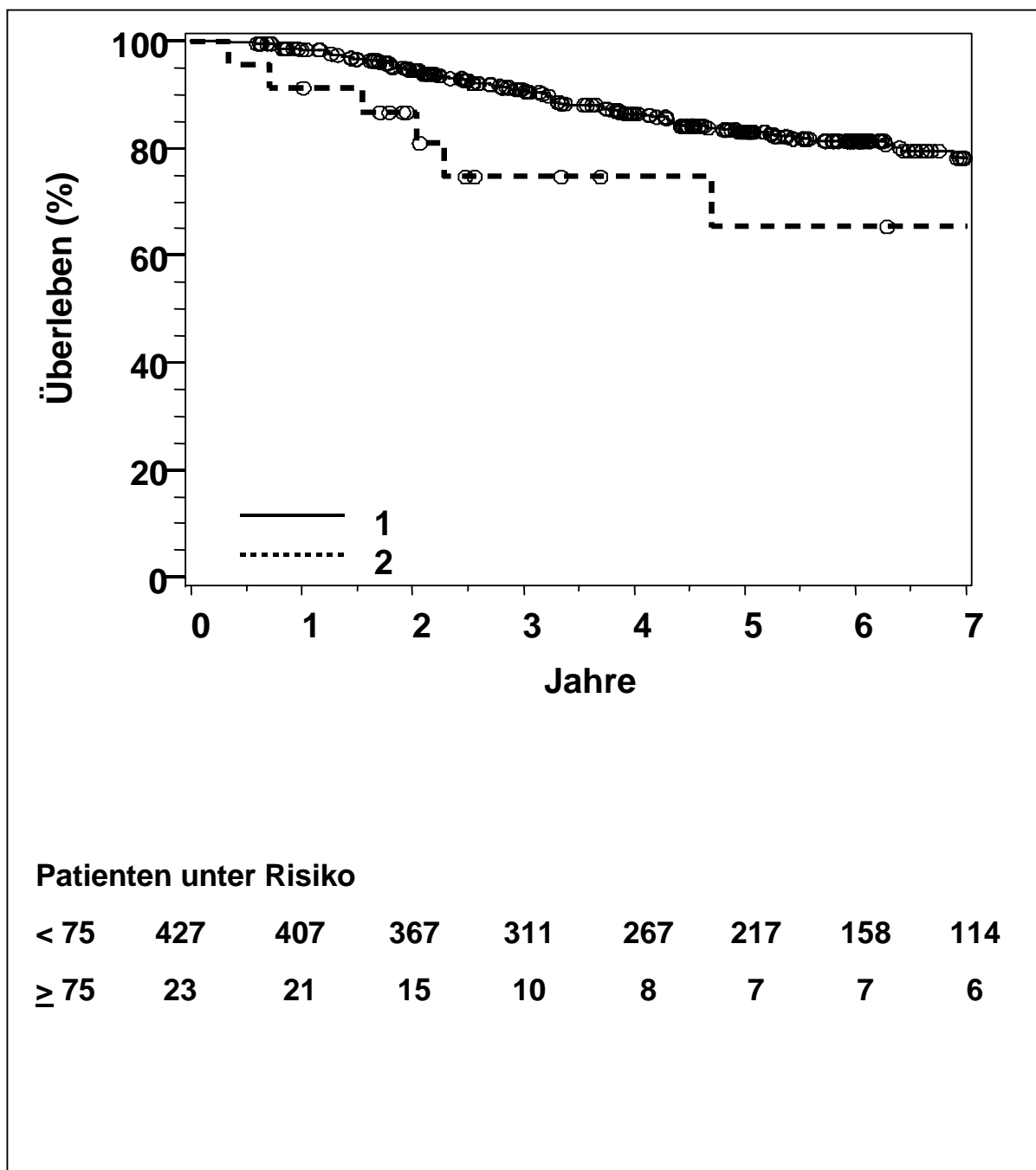


Abbildung 86: Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der präoperativen CA 19-9-Werte. 1: CA 19-9 < 75 U/ml; 2: CA 19-9 ≥ 75 U/ml. N=450, p=0.014.

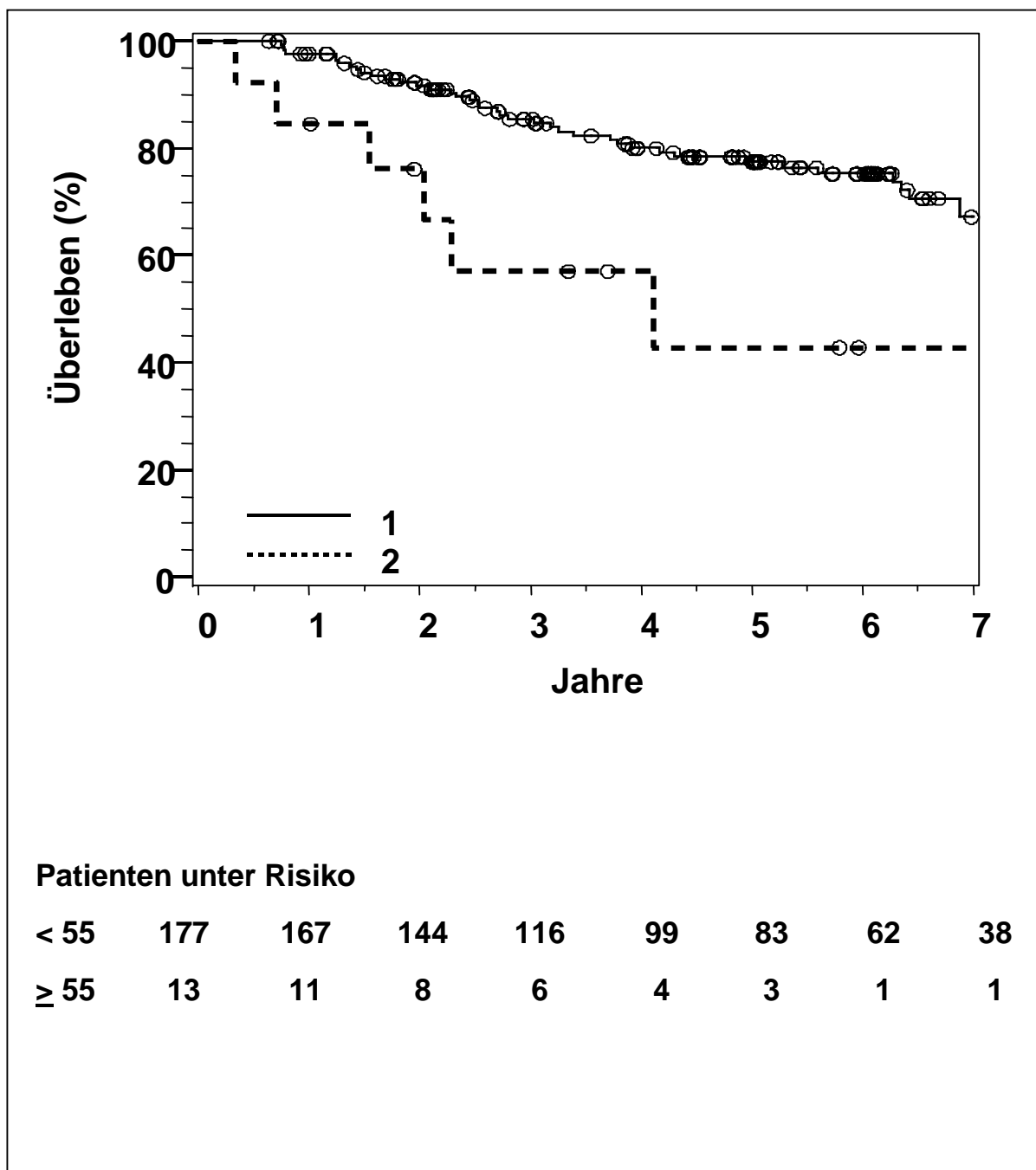


Abbildung 87: Ungünstige Prognosegruppe. Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der präoperativen CA 19-9-Werte. 1: CA 19-9 < 55 U/ml; 2: CA 19-9 ≥ 55 U/ml. N=190, p=0.017.

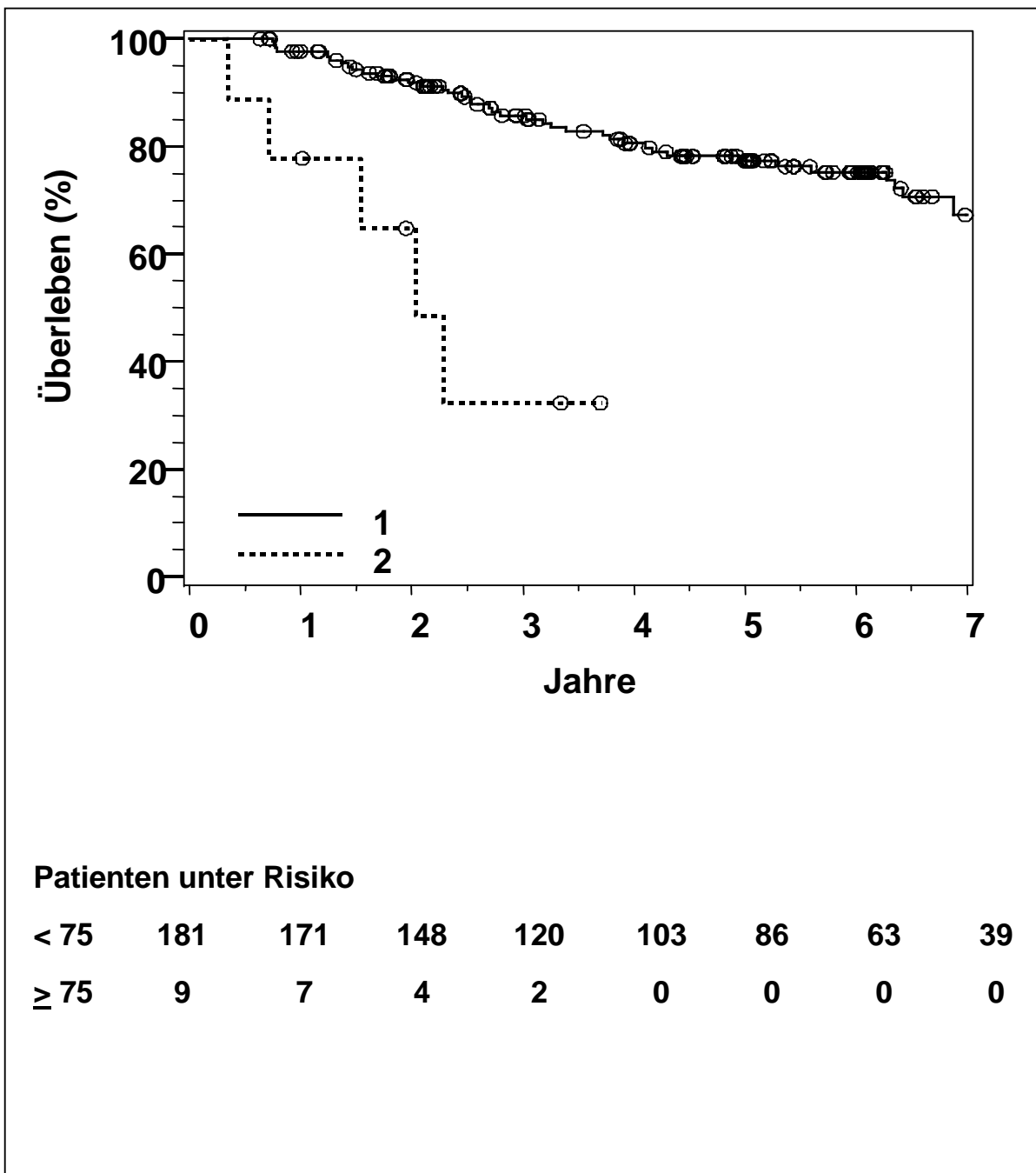


Abbildung 88: Ungünstige Prognosegruppe. Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der präoperativen CA 19-9-Werte. 1: CA 19-9 < 75 U/ml; 2: CA 19-9 ≥ 75 U/ml. N=190, p=0.001.

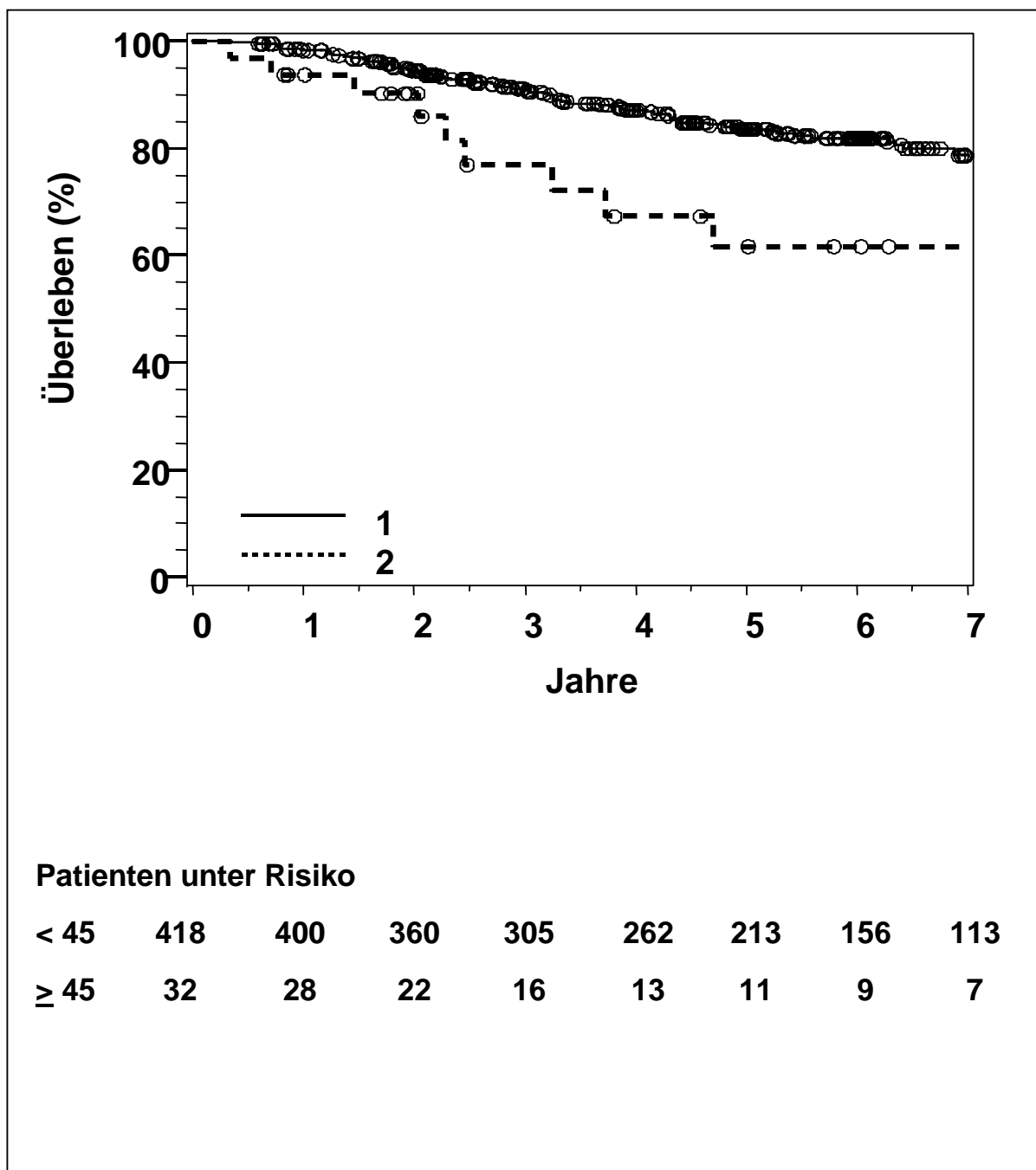


Abbildung 89: Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der präoperativen CA 242-Werte. 1: CA 242 < 45 ng/ml; 2: CA 242 ≥ 45 ng/ml. N=450, p=0.004.

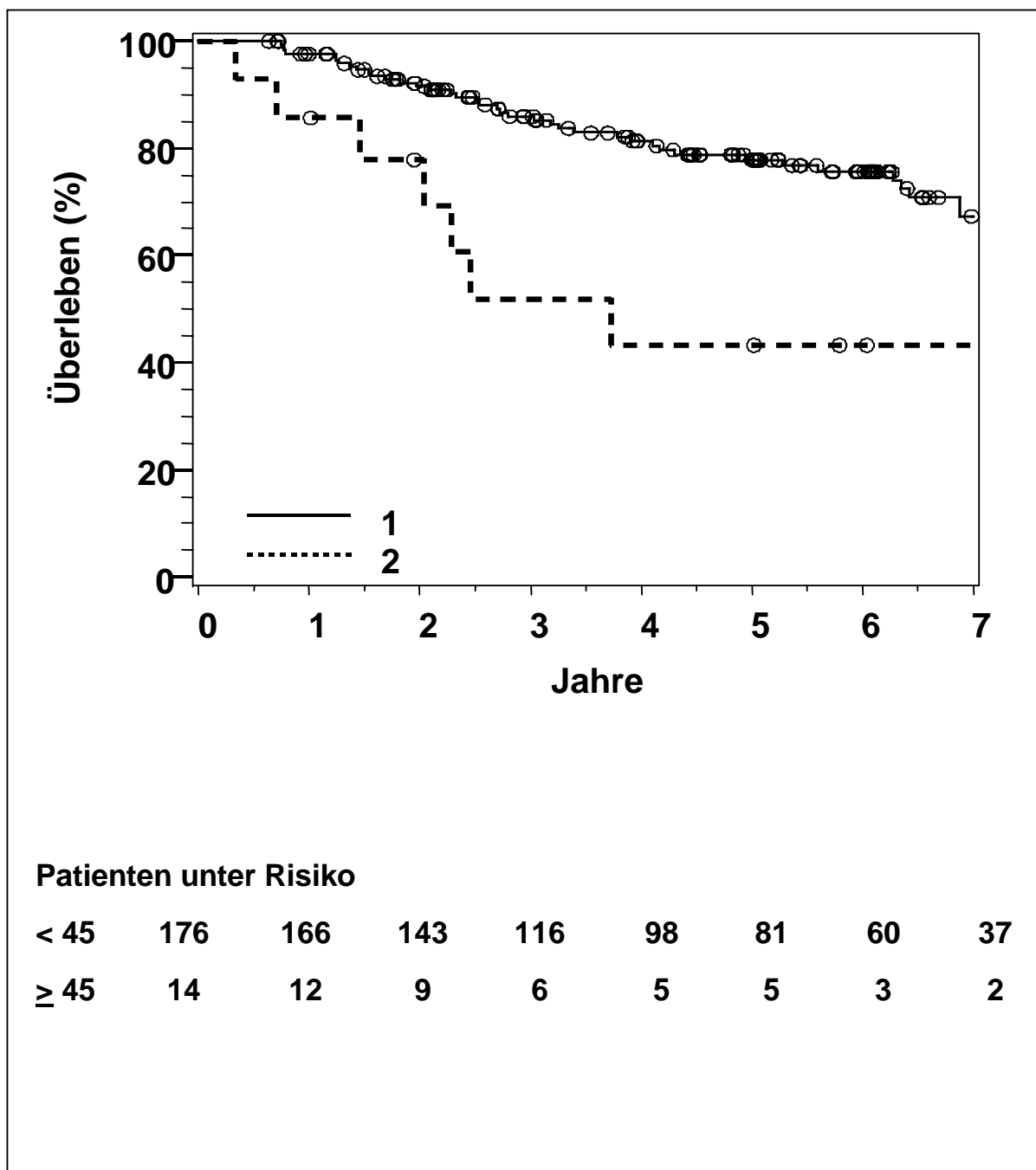


Abbildung 90: Ungünstige Prognosegruppe. Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der präoperativen CA 242-Werte. 1: CA 242 < 45 ng/ml; 2: CA 242 ≥ 45 ng/ml. N=190, p=0.006.

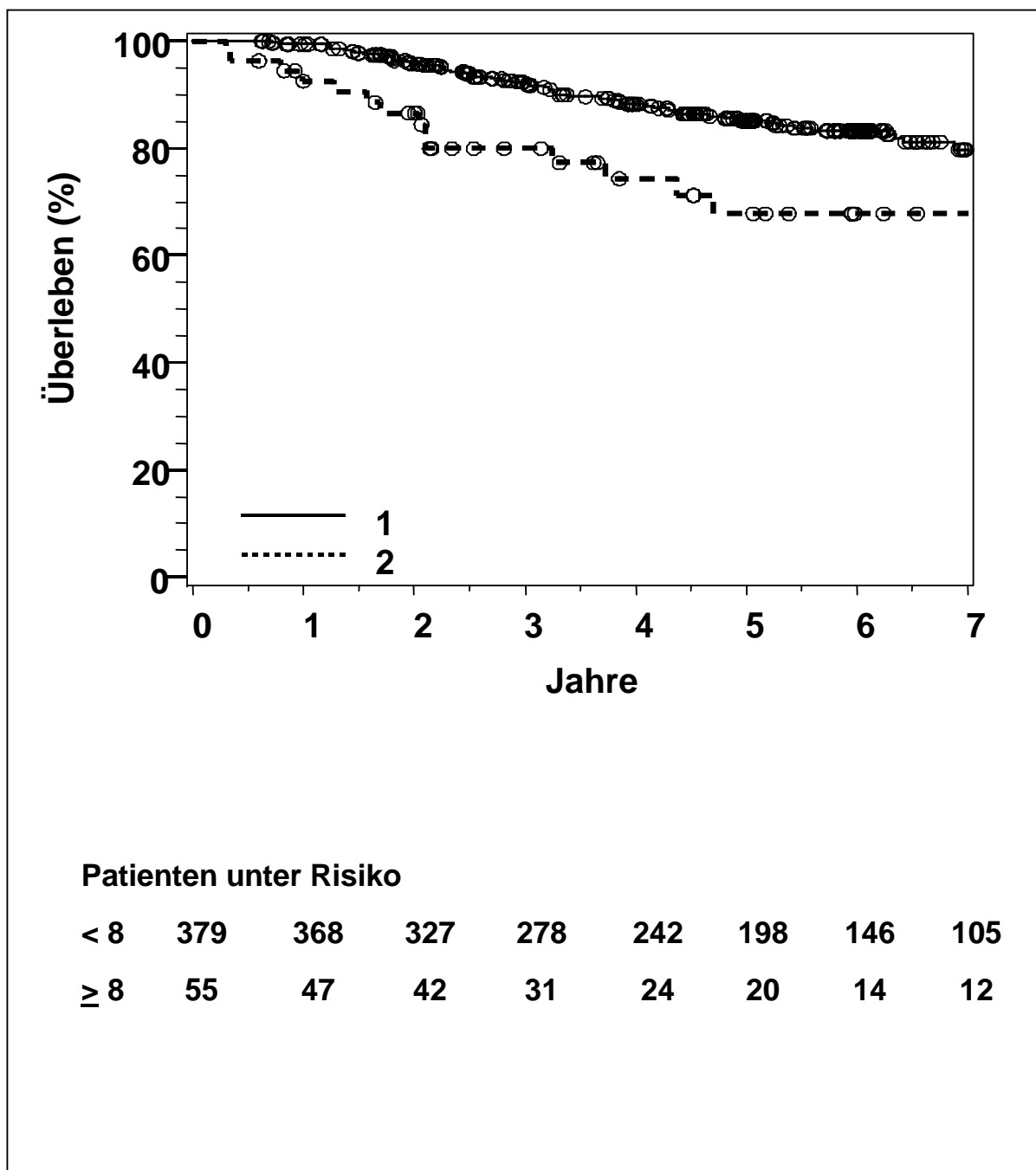


Abbildung 91: Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der präoperativen CA 72-4-Werte. 1: CA 72-4 < 8 ng/ml; 2: CA 72-4 ≥ 8 ng/ml. N=434, p=0.010.

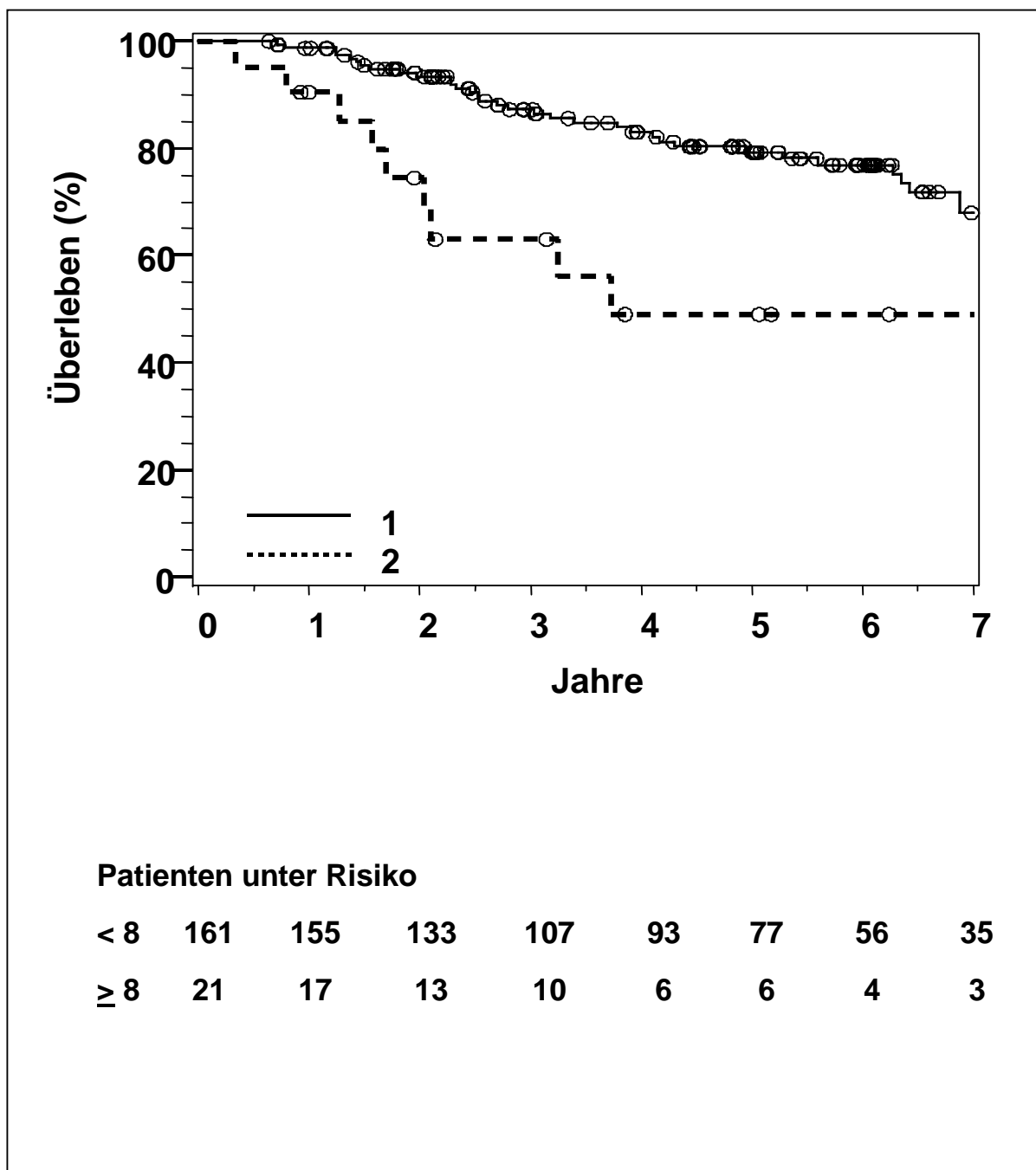


Abbildung 92: Ungünstige Prognosegruppe. Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der präoperativen CA 72-4-Werte. 1: CA 72-4 < 8 ng/ml; 2: CA 72-4 ≥ 8 ng/ml. N=182, p=0.003.

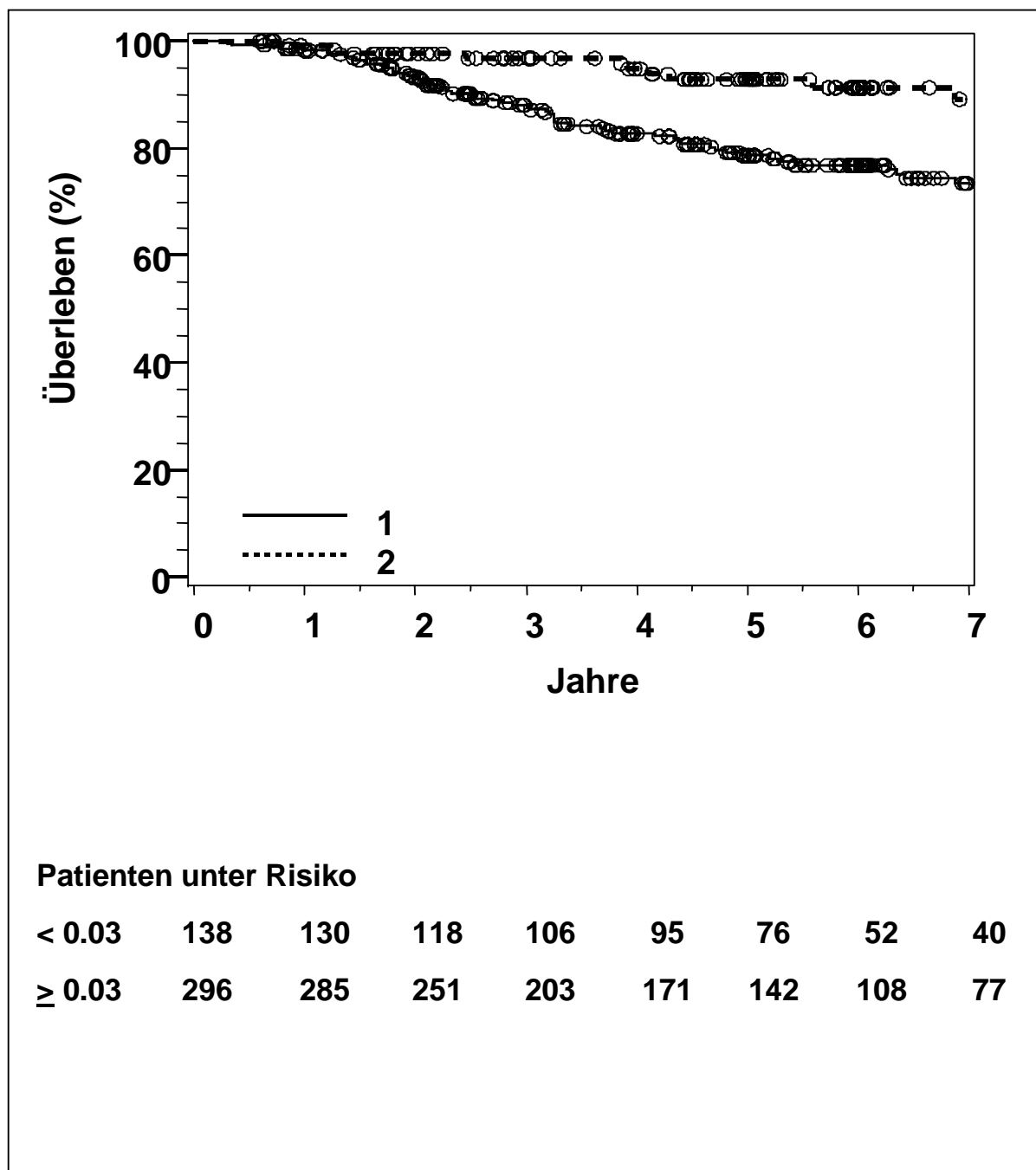


Abbildung 93: Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der präoperativen S100-Werte. 1: S100 < 0.03; 2: ≥ 0.03 ng/ml. N=434, p<0.001.

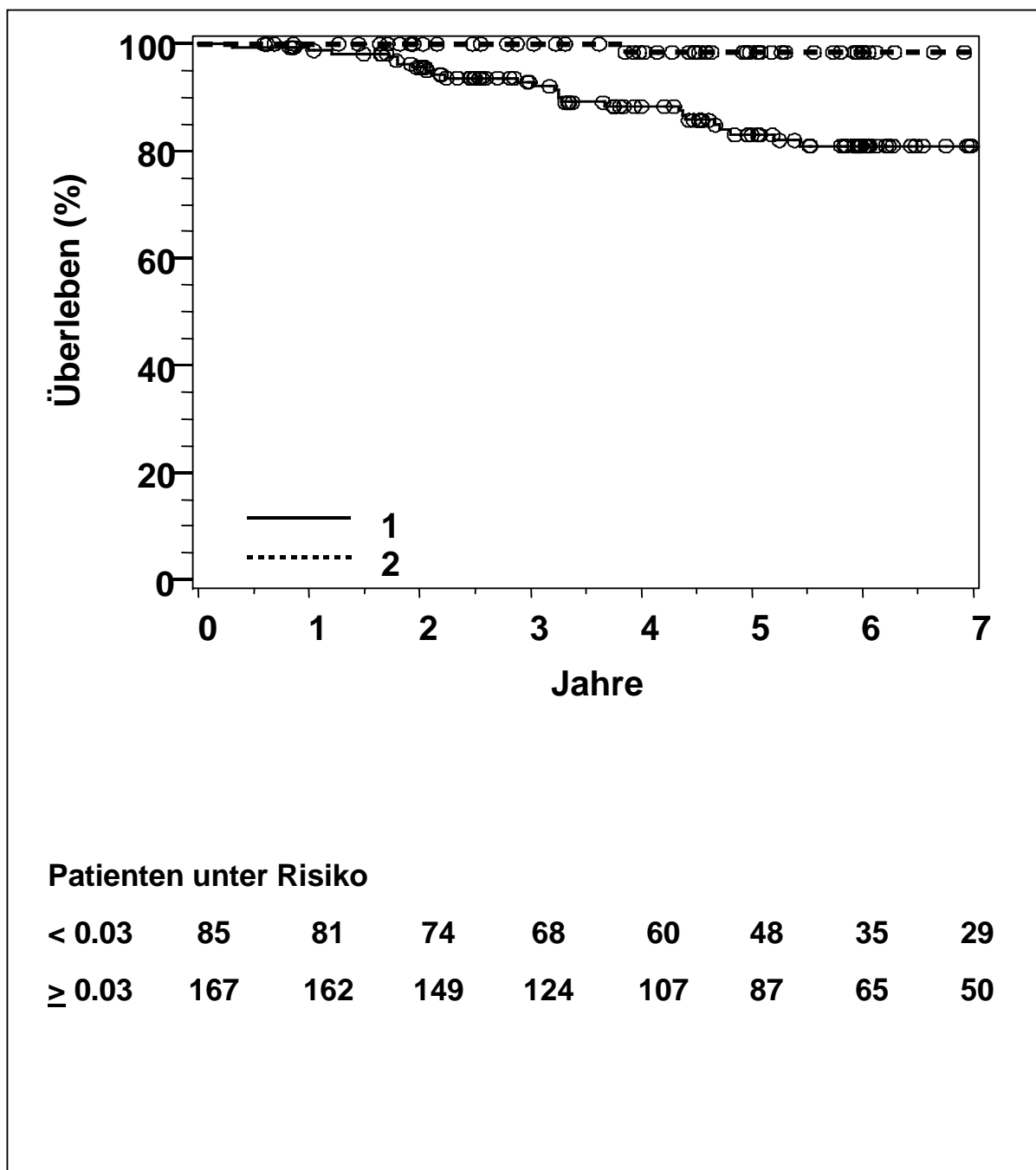


Abbildung 94: Günstige Prognosegruppe. Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der präoperativen S100-Werte. 1: S100 < 0.03 ng/ml; 2: ≥ 0.03 ng/ml. N=252, p<0.001.

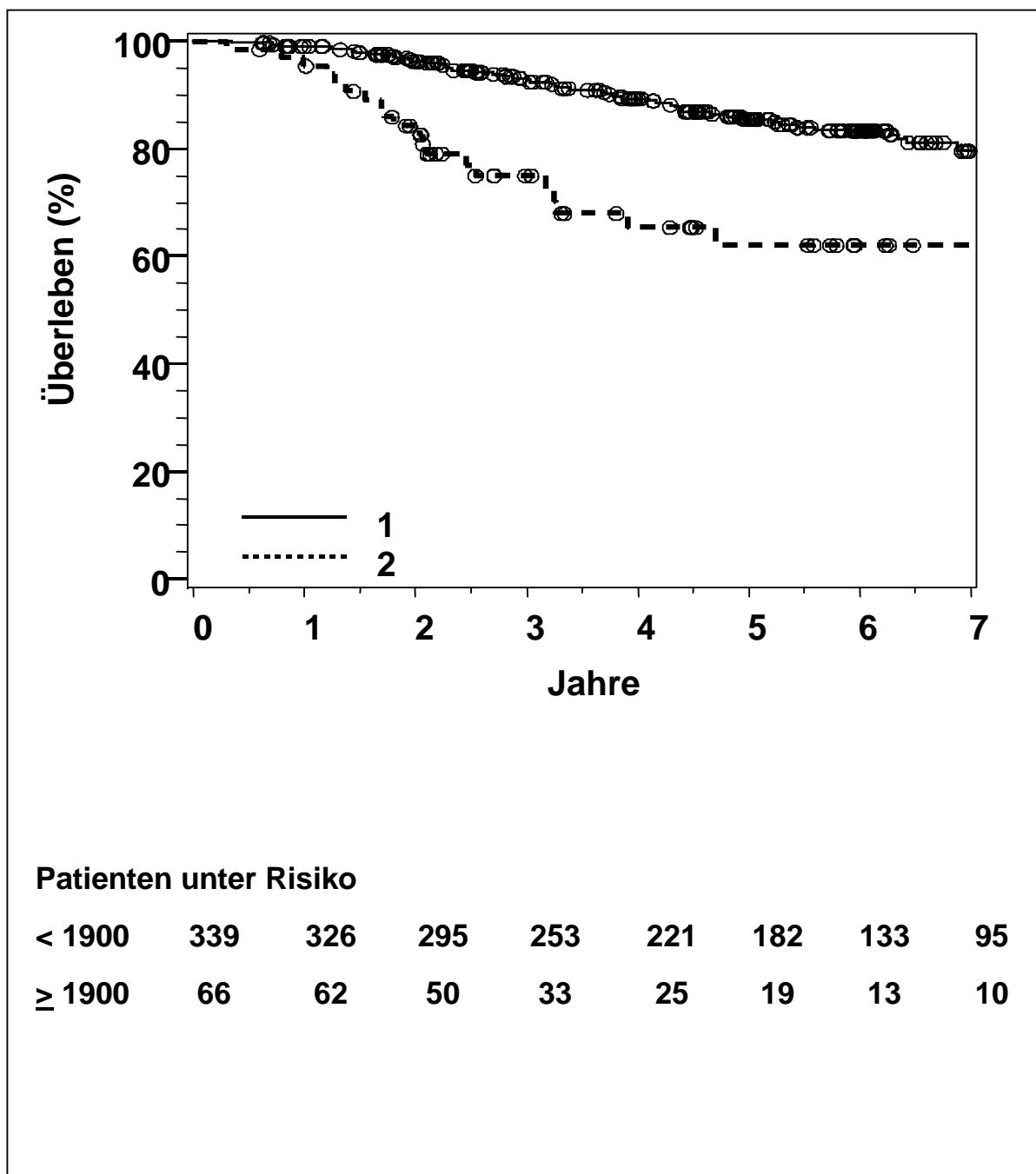


Abbildung 95: Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der präoperativen HGF-Werte. 1: HGF < 1900 pg/ml; 2: HGF ≥ 1900 pg/ml. N=405, p<0.001.

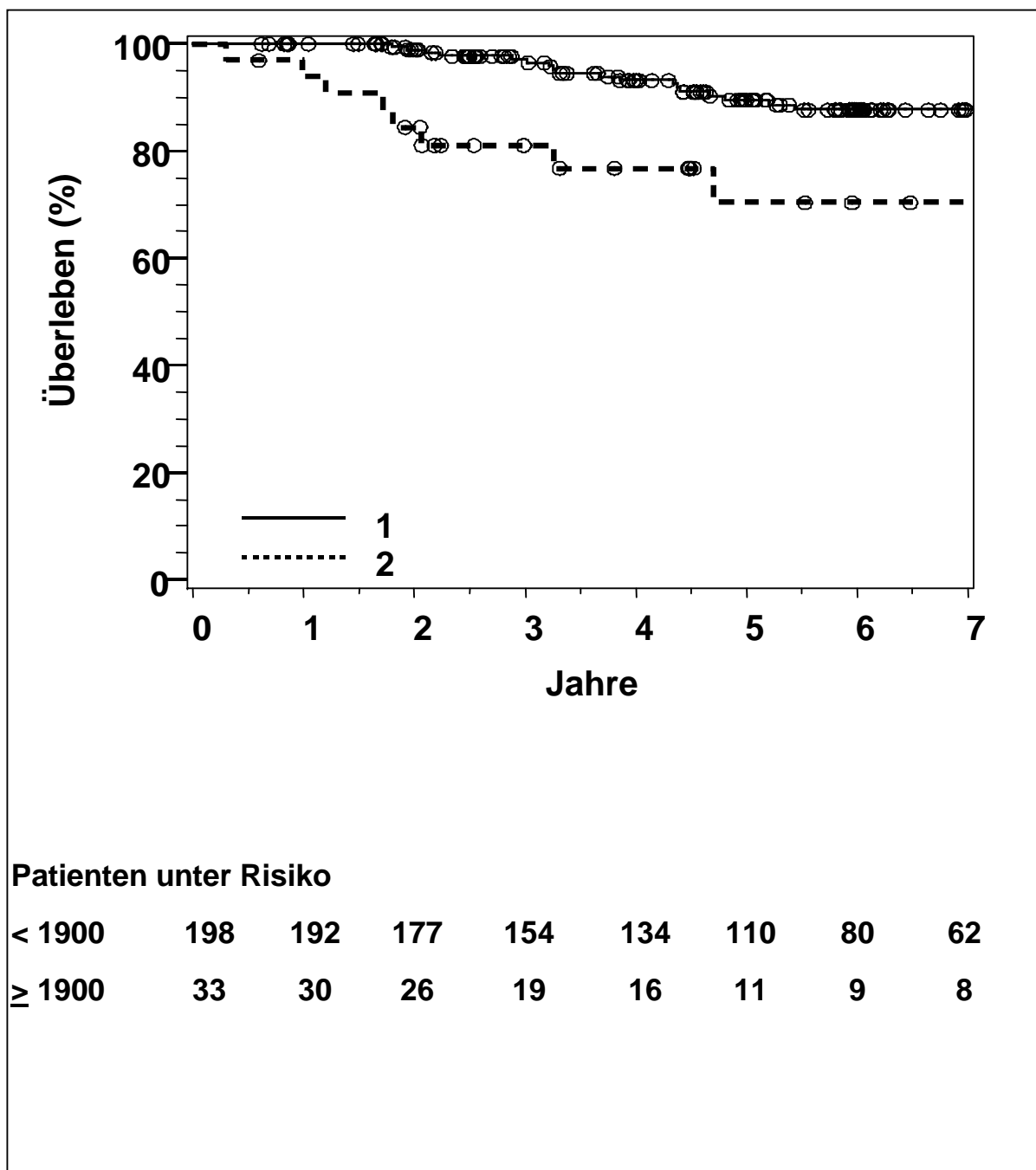


Abbildung 96: Günstige Prognosegruppe. Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der präoperativen HGF-Werte. 1: HGF < 1900 pg/ml; 2: HGF ≥ 1900 pg/ml. N=231, p<0.001.

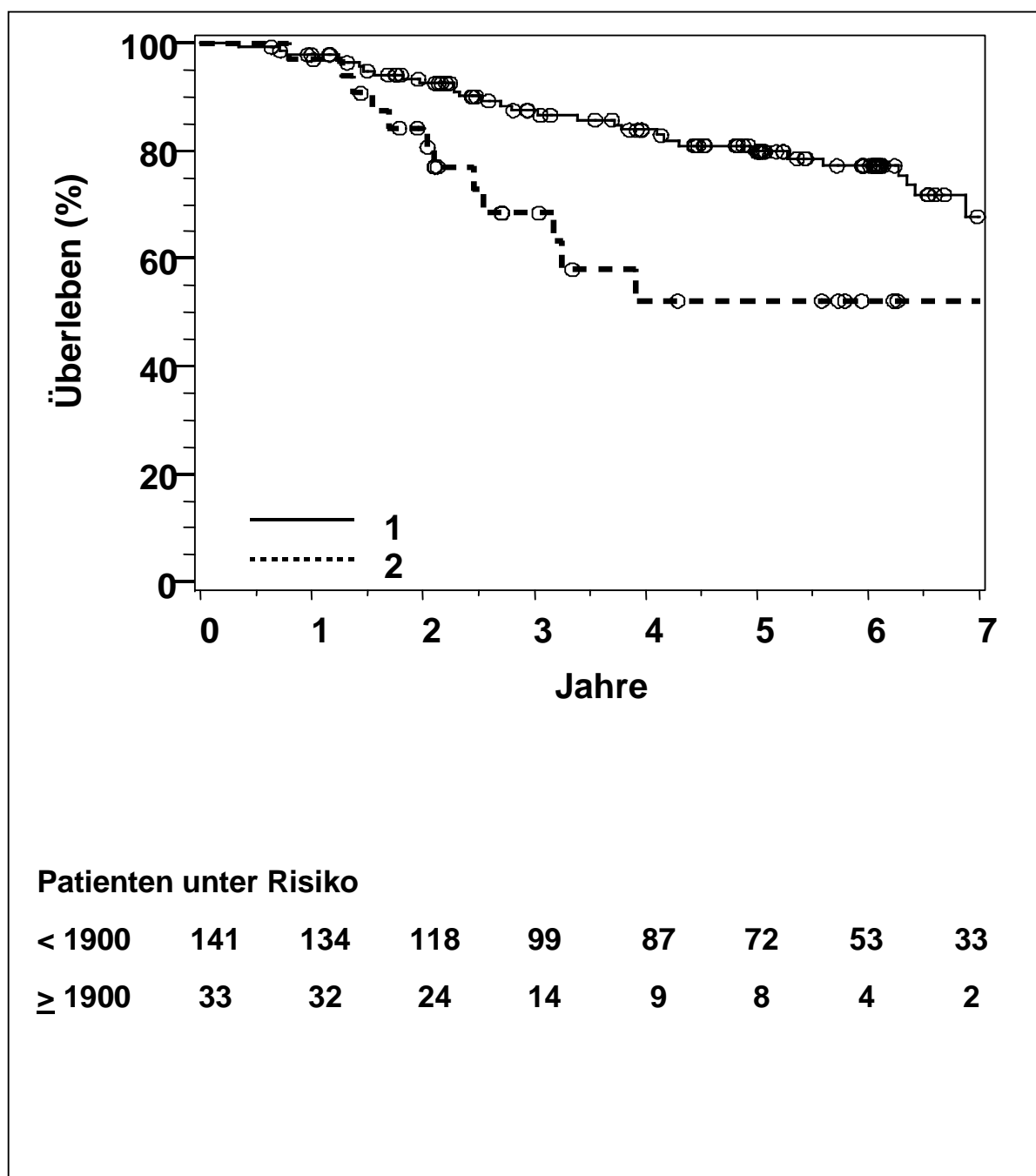


Abbildung 97: Ungünstige Prognosegruppe. Kaplan-Meier-Kurven für das Überleben bezüglich der präoperativen HGF-Werte. 1: HGF < 1900 pg/ml; 2: HGF ≥ 1900 pg/ml. N=174, p=0.001.

3.2.3 Multivariate Analyse

Analog zum Kollektiv I wurde eine multivariate Analyse aller univariat signifikanten Parameter durchgeführt.

3.2.3.1 Rezidivierung

In der günstigen Prognosegruppe war neben der Tumordinfiltrationstiefe nur der Tumormarker S100 ein signifikant unabhängiger Prognosefaktor (Tabelle 28).

Bei der Auswertung der ungünstigen Prognosegruppe waren die Parameter Lokalisation und Tumordinfiltrationstiefe (beide Parameter sind zusammen eingegangen), Lymphknotenstatus, Log (CEA), CA 19-9, CA 242 und HGF unabhängige Prädiktoren für das rezidivfreie Überleben.

Die Tabelle 29 zeigt die drei verschiedenen Modelle in dieser Gruppe (zur Modellbildung s. Kapitel 2.4).

CA 242 und HGF (Modell 1), CA 19-9 (55 U/ml) und HGF (Modell 2) sowie Log (CEA) und CA 19-9 (75 U/ml)(Modell 3) erreichten neben dem T- und dem N-Stadium unabhängige Wertigkeit.

Bezüglich des AIC-Wertes (Akaikes Information Criterion) war Modell 2 das Modell mit der höchsten statistischen Stärke.

Wurden nur Patienten mit Kolonkarzinom Stadium I und II berücksichtigt, waren die Tumormarker S100 und CEA unabhängige Prädiktoren für das rezidivfreie Überleben. Die Tumordinfiltrationstiefe erreichte hier keine Signifikanz (Tabelle 31).

3.2.3.2 Überleben

Die Tumormarker S100 und HGF waren unabhängige Prognosefaktoren für das Überleben innerhalb der günstigen Prognosegruppe (Tabelle 28). Die Tumordinfiltrationstiefe erreichte keine Signifikanz.

Innerhalb der ungünstigen Prognosegruppe waren CEA, CA 19-9, CA 242, CA 72-4 und HGF unabhängige Prognosefaktoren für das Überleben jedoch nur nach Berücksichtigung in unterschiedlichen Modellen.

Die Tabelle 30 zeigt die vier verschiedene Modelle in dieser Gruppe (zur Modellbildung s. Kapitel 2.4).

CA 242, CA 72-4 und HGF (Modell 1), CA 19-9 (75 U/ml), CA 72-4 und HGF (Modell 2),

CA 19-9 (55 U/ml), CA 72-4 und HGF (Modell 3), sowie Log (CEA), CA 19-9 (75 U/ml) und HGF (Modell 4) erreichten unabhängige Wertigkeit. Bis auf Modell 1 erreichten das T- und das N-Stadium in allen 4 Modellen Signifikanz.

Bezüglich des AIC-Wertes (Akaikes Information Criterion) war das Modell 3 das Modell mit der höchsten statistischen Stärke.

Tabelle 28: Prognosefaktoren bei Patienten mit kolorektalen Karzinomen zum Zeitpunkt der Primärtherapie. Multivariate Analyse des rezidivfreien Überlebens und des Überlebens in der günstigen Prognosegruppe

GPG				
Prognosefaktor	ß-Koeffizient	HR	95% KI	p
DFS				
T1+T2 vs. T3+T4	0.81866	2.27	1.20 – 4.30	0.0122
S100 (< vs. ≥ 0.03 ng/ml)	-1.47221	0.23	0.09 – 0.59	0.0021
OTS				
T1+T2 vs. T3+T4				NS
S100 (< vs. ≥ 0.03 ng/ml)	-2.70986	0.07	<0.01 – 0.49	0.0078
HGF (< vs. ≥ 1900 pg/ml)	1.35370	3.87	1.75 – 8.58	0.0009

GPG= günstige Prognosegruppe, HR= Hazard ratio, KI= Konfidenzintervall, NS= Nicht signifikant

Tabelle 29: Prognosefaktoren bei Patienten mit kolorektalen Karzinomen zum Zeitpunkt der Primärtherapie. Multivariate Analyse des rezidivfreien Überlebens in der ungünstigen Prognosegruppe.

UPG				
Prognosefaktor	β -Koeffizient	HR	95% KI	p
DFS – Modell 1 (AIC = 627)				
T4 oder Rektum vs. T1-T3 und Kolon	0.88355	2.42	1.37 – 4.26	0.0022
N2 vs. N0+N1	1.61753	5.04	3.05 – 8.34	<0.0001
CA 242 (< vs. \geq 45 ng/ml)	1.49659	4.47	2.29 – 8.71	<0.0001
HGF(< vs. \geq 1900 pg/ml)	0.65459	1.92	1.11 – 3.34	0.0202
DFS – Modell 2 (AIC = 636)				
T4 oder Rektum vs. T1-T3 und Kolon	1.01886	2.77	1.56 – 4.93	0.0005
N2 vs. N0+N1	1.53113	4.62	2.82 – 7.59	<0.0001
CA 19-9 (< vs. \geq 55 U/ml)	1.06766	2.91	1.36 – 6.23	0.0060
HGF (< vs. \geq 1900 pg/ml)	0.63012	1.88	1.08 – 3.26	0.0254
DFS – Modell 3 (AIC = 633)				
T4 oder Rektum vs. T1-T3 und Kolon	1.03274	2.81	1.57 – 4.98	0.0004
N2 vs. N0+N1	1.51120	4.53	2.76 – 7.45	<0.0001
Log (CEA)	0.19774	1.22	1.02 – 1.46	0.0330
CA 19-9 (< vs. \geq 75 U/ml)	1.51593	4.55	1.89 – 10.99	0.0007

UPG= ungünstige Prognosegruppe, HR= Hazard ratio, KI= Konfidenzintervall, AIC: Akaiques Information Criterion

Tabelle 30: Prognosefaktoren bei Patienten mit kolorektalen Karzinomen zum Zeitpunkt der Primärtherapie. Multivariate Analyse des Überlebens in der ungünstigen Prognosegruppe.

UPG

Prognosefaktor	β-Koeffizient	HR	95% KI	p
OTS – Modell 1 (AIC = 364)				
T4 oder Rektum vs. T1-T3 und Kolon	0.62574	1.87	0.92 – 3.80	NS
N2 vs. N0+N1	2.09410	8.12	4.27 – 15.45	<0.0001
CA 242 (< vs. ≥ 45 U/ml)	1.22173	3.39	1.49 – 7.74	0.0037
CA 72-4 (< vs. ≥ 8 ng/ml)	0.81795	2.27	1.01 – 5.08	0.0470
HGF (< vs. ≥ 1900 pg/ml)	1.02726	2.80	1.40 – 5.58	0.0037
OTS – Modell 2 (AIC = 362)				
T4 oder Rektum vs. T1-T3 und Kolon	0.72741	2.07	1.02 – 4.17	0.0419
N2 vs. N0+N1	2.01528	7.50	4.03 – 13.94	<0.0001
CA 19-9 (< vs. ≥ 75 U/ml)	1.88664	6.60	2.39 – 18.21	0.0003
CA 72-4 (< vs. ≥ 8 ng/ml)	0.98183	2.67	1.17 – 6.05	0.0187
HGF (< vs. ≥ 1900 pg/ml)	0.92779	2.53	1.23 – 5.19	0.0114
OTS – Modell 3 (AIC = 367)				
T4 oder Rektum vs. T1-T3 und Kolon	0.71392	2.04	1.01 – 4.15	0.0484
N2 vs. N0+N1	1.99969	7.39	3.96 – 13.80	<0.0001
CA 19-9 (< vs. ≥ 55 U/ml)	0.95444	2.60	1.06 – 6.35	0.0364
CA 72-4 (< vs. ≥ 8 ng/ml)	0.88715	2.43	1.08 – 5.50	0.0314
HGF (< vs. ≥ 1900 pg/ml)	0.98496	2.70	1.33 – 5.37	0.0056
OTS – Modell 4 (AIC = 362)				
T4 oder Rektum vs. T1-T3 und Kolon	0.90963	2.48	1.22 – 5.05	0.012
N2 vs. N0+N1	1.99190	7.33	3.94 – 13.63	<0.0001
Log (CEA)	0.27063	1.31	1.03 – 1.66	0.0264
CA 19-9 (< vs. ≥ 75 U/ml)	1.83288	6.25	2.29 – 17.05	0.0003
HGF (< vs. ≥ 1900 pg/ml)	0.91266	2.49	1.23 – 5.04	0.0111

UPG= ungünstige Prognosegruppe, HR= Hazard ratio, KI= Konfidenzintervall, AIC=Akaikes Information Criterion, NS= Nicht signifikant

Tabelle 31: Prognosefaktoren bei Patienten mit Kolonkarzinom ohne Lymphknotenbefall (UICC I+II). Multivariate Analyse des rezidivfreien Überlebens.

UICC I+II

Prognosefaktor	β-Koeffizient	HR	95% KI	<i>p</i>
T1+T2 vs. T3+T4				NS
Log (CEA)	0.37059	1.5		0.0143
S100 (< vs. \geq 0.03 ng/ml)	-1.45586	0.23		0.0066

HR= Hazard ratio, KI= Konfidenzintervall, NS= Nicht signifikant

4 DISKUSSION

Die pathohistologischen Eigenschaften des Primärtumors dienen der Therapieplanung und stellen beim kolorektalen Karzinom auch den Gold-Standard für die Prognoseabschätzung dar. Im Allgemeinen lässt sich sagen, dass ein niedriges Tumorstadium mit einer besseren Prognose einhergeht, als dies bei fortgeschrittenen Tumoren der Fall ist.

Die seit einigen Jahren verwendete TNM-Klassifikation der UICC ermöglicht bereits eine genauere Unterteilung maligner Tumoren und ist der Dukes-Klassifikation diesbezüglich überlegen, dennoch stellt sich immer wieder die Frage, ob nicht noch andere Parameter das pathohistologische Staging ergänzen können.

CEA wurde vom College of American Pathologist bereits als geeigneter Stagingparameter eingestuft und fand auch Berücksichtigung in der Kategorie I der Prognosefaktoren beim kolorektalen Karzinom (Henson, 1995; Compton, 2000).

Um zu überprüfen, ob ein Parameter wie in diesem Fall ein Tumormarker als Prognosefaktor geeignet ist, muss er verschiedene Bedingungen erfüllen. Besonders wichtig ist in diesem Zusammenhang die vom Tumorstadium unabhängige Wertigkeit. Laut der Richtlinien der European Group on Tumour Markers wird eine Auswertung in spezifischen Untergruppen empfohlen (Duffy, 2003).

In der vorliegenden Arbeit wurde dies in Form einer günstigen und einer ungünstigen Prognosegruppe berücksichtigt. In der günstigen Prognosegruppe (GPG) befanden sich Patienten mit einem Kolonkarzinom Stadium I-II oder Rektumkarzinom Stadium I. In der ungünstigen Prognosegruppe (UPG) befanden sich Patienten mit einem Kolonkarzinom Stadium III oder einem Rektumkarzinom Stadium II oder III. Die Unterteilung in diese Prognosegruppen wurde anhand der gängigen Empfehlungen zur Indikation für eine adjuvante Therapie vorgenommen (Junginger, 1999).

Die Fragestellung dabei war, ob sich innerhalb der günstigen Prognosegruppe Patienten befinden, die zwar nach derzeit gültigen Kriterien keine adjuvante Therapie erhalten, aber die von einer solchen Therapie profitieren können. Für die ungünstige Prognosegruppe sollte geklärt werden, ob Patienten identifiziert werden können, für die ein aggressiveres Therapieregime von Nutzen sein kann oder für die eine Indikation zur adjuvanten Therapie erst gar nicht gestellt werden sollte.

Bei quantitativen Messwerten ist die Bestimmung eines Cut-Offs generell ein wichtiger Punkt. Viele Studien zur prognostischen Aussagekraft von Tumormarkern beim kolorektalen Karzinom basieren auf Grenzwerten, die von den Herstellern zur Routineanwendung

angegeben werden. In Anbetracht der Tatsache, dass es bislang keine tumorspezifischen Kenngrößen bei Tumorerkrankungen gibt, entsprechen solche Grenzwerte lediglich der 95te Perzentile eines untersuchten Kontrollkollektivs. Mangelnde Sensitivität und Spezifität (Tumor- und Organspezifität) limitieren den Einsatz von Tumormarkern in der Diagnose von kolorektalen Karzinomen v.a. bei niedrigen Stadien, dennoch muss berücksichtigt werden, dass im Einzelfall eine tumorbedingte Freisetzung innerhalb des Referenzbereichs prognostisch von Bedeutung sein kann.

Aufgrund mangelnder etablierter Methoden und Cut-Offs wurde für diese Arbeit eine Methode zur Cut-Off-Bestimmung entwickelt (s. Kapitel 2.4.1).

Dabei wurde zunächst eine Stetigkeitsprüfung der Hazard ratio in Abhängig der Tumormarkerkonzentration durchgeführt. Bei nicht gegebener Stetigkeit wurde gemäß dem Statistikteil ein Cut-Off bestimmt.

Es ist bekannt, dass bei Tumorerkrankungen sowie auch beim kolorektalen Karzinom eine ganze Reihe unterschiedlicher Proteine freigesetzt werden.

Es ist also nahe liegend zu untersuchen, inwiefern der Nachweis bzw. die Freisetzung dieser Proteine im Zusammenhang mit dem Verlauf und der Prognose einer Tumorerkrankung zusammenhängt. Während der Tumormarker CEA mittlerweile als etablierter Tumormarker beim kolorektalen Karzinom gesehen werden kann, stellt sich die Frage ob neben CEA auch andere Tumormarker Relevanz haben könnten.

In der vorliegenden Arbeit wurde die prognostische Aussagekraft der Tumormarker CEA, CA 19-9, CA 242, CA 72-4, CYFRA 21-1, hCG β , S100 und HGF im Vergleich zu etablierten klinischen Prognosefaktoren beim kurativ-resezierten kolorektalen Karzinom zum Zeitpunkt der Primärdiagnose untersucht. Es wurden nur Tumormarker berücksichtigt, bei denen eine erhöhte Freisetzung bekannt ist oder für die eine prognostische Relevanz bei kolorektalen Karzinomen beschrieben wurde.

Bezüglich der prognostischen Relevanz der klinischen Kenngrößen konnten wir die Ergebnisse anderer Studien bestätigen: In der günstigen Prognosegruppe war die Tumordinfiltrationstiefe, in der ungünstigen Prognosegruppe waren die Tumordinfiltrationstiefe, der Lymphknotenstatus und die Tumorlokalisation unabhängige Prognosefaktoren (Bosman, 1995; Park, 1999; Compton, 2000; Fujita, 2003).

Hinsichtlich der laborchemischen Parameter ergab sich folgendes Bild:

CEA

Seitdem CEA das erste Mal von Gold und Freedman beschrieben wurde (Gold, 1965), beschäftigten sich zahlreiche Autoren mit seiner prognostischen Wertigkeit in unterschiedlichen Gruppen von Patienten mit kolorektalen Karzinom.

CEA ist der am Häufigsten evaluierte und älteste Serومتumormarker. Aufgrund der niedrigen Organ- und Tumorspezifität hat CEA zumindest bei einer einmaligen Untersuchung einen niedrigen Stellenwert beim Screening und bei der Primärdiagnose kolorektaler Karzinome (Duffy, 2001). Bei einem Cut-Off von 2.5 ng/ml errechnete Fletcher et al. eine Sensitivität von 37% und eine Spezifität von 87% für das Screening von kolorektalen Karzinomen niedriger Stadien (Dukes A und B). Hinsichtlich Primärdiagnose zeigten sich Sensitivitätsraten zwischen 30 und 80% in Abhängigkeit des Tumorstadiums.

CEA ist zwar der Tumormarker, der bei Patienten mit kolorektalen Karzinom im Vergleich zu anderen Tumormarkern am Häufigsten freigesetzt wird, berücksichtigt man jedoch die CEA-Negativität trotz fortgeschrittener Tumorerkrankung bei etwa 20-30% der Patienten (Duffy, 2001), müssen auch andere Tumormarker in Betracht gezogen werden. Geeignete Tumormarker sollten hinsichtlich Freisetzung nicht oder nur gering mit der CEA-Freisetzung korrelieren und außerdem unabhängige Prädiktoren hinsichtlich des rezidivfreien Intervalls oder des Überlebens sein.

In der größten und prospektiv durchgeführten Studie (n=572) fanden Harrison et al. (Harrison, 1997), dass der präoperative CEA-Wert (Cut-Off 5 ng/ml) ein unabhängiger Prädiktor für das Überleben von Patienten mit Kolonkarzinom ohne Lymphknotenbefall war. In anderen multivariaten Studien zeigte sich ebenso ein signifikanter Einfluss des CEA auf das Überleben bei kurativ resezierten und auch metastasierten kolorektalen Tumoren (Webb, 1995; Carriquiry, 1999; Park, 1999; Wang, 2000; Allende, 2001; Yuste, 2003).

In unserer Auswertung war CEA primär ein unabhängiger Prognosefaktor für die Patienten mit niedrigeren Tumorstadien. Dies zeigte sich in der multivariaten Analyse der günstigen Prognosegruppe des großen Kollektivs (I).

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Harrison et al war CEA auch in der Gruppe der N0-Kolontumoren ein unabhängiger Prognosefaktor.

In der ungünstigen Prognosegruppe war CEA in dieser Arbeit nur von geringer prognostischer Bedeutung. Im Kollektiv I wurde nur univariat Signifikanzniveau erreicht, im Kollektiv II wurde CEA erst dann signifikant, wenn alle anderen Tumormarker bis auf CA 19-9

ausgeschlossen wurden.

In mehreren Studien wurde aber auch gezeigt, dass CEA an prognostischer Relevanz verlor, wenn andere Tumormarker wie z.B. CA 19-9 oder CA 242 berücksichtigt wurden (Carpelan-Holmstrom, 1995; Reiter, 1997). Dieser Zusammenhang konnte in unserer Arbeit auch gefunden werden.

CEA korrelierte nur gering mit der Freisetzung von CA 19-9 im Kollektiv I ($r < 0.30$). Im Kollektiv II zeigten sich ebenfalls niedrige Korrelationen zwischen CEA und CA 19-9 ($r = 0.36$) sowie CEA und CA 242 ($r = 0.32$). Im Gegensatz zu einem Großteil der Studien auf diesem Sektor wurde in dieser Arbeit der lineare Zusammenhang zwischen Rezidivrisiko und CEA-Konzentration berücksichtigt. CEA war der einzige Tumormarker, bei dem sich diese Linearität gezeigt hatte. Um diese zusätzliche Information berücksichtigen zu können, ging CEA als Log CEA in die weitere Auswertung ein. Die Cut-off-Bestimmung wäre in diesem Fall nicht sinnvoll gewesen.

Zudem fand sich ein signifikanter Anstieg der CEA-Konzentration in Abhängigkeit der Tumordinfiltrationstiefe und des Lymphknotenstatus. Der Zusammenhang zwischen CEA-Freisetzung und fortgeschrittenem Tumorstadium ist bekannt und wurde bereits mehrfach beschrieben.

CA 19-9

Reiter et al. verglich CA 19-9 und CEA bei 495 Patienten mit kolorektalen Karzinom und beschrieb eine unabhängige prognostische Relevanz nur für das CA 19-9. Nach Ausschluss der Patienten mit Dukes A und D Tumoren war CA 19-9 (Cut-off 60 U/ml) ein stärkerer Prädiktor für das Überleben als CEA (Reiter, 1997). Vergleichbare Ergebnisse für CA 19-9 und CEA fand Filella et al. bei 162 Patienten in der Auswertung des rezidivfreien Überlebens (Filella, 1992).

Im Unterschied zu den Untersuchungen von Reiter et al. sowie zu unserer Auswertung wurde in der Studie von Filella et al. ein sehr viel niedriger Cut-off verwendet (Cut-off 37 U/ml).

Bei 62 Patienten mit kurativ reseziertem kolorektalen Karzinom Stadium Dukes B oder C und Zustand nach adjuvanter Therapie bestätigte Behbani et al. diese Ergebnisse (Behbehani, 2000).

In unserer Arbeit beeinflusste CA 19-9 signifikant sowohl die Rezidivierung als auch das Überleben und war ein vom Staging unabhängiger Prognosefaktor in der ungünstigen

Prognosegruppe beider Kollektive. Hinsichtlich der Hazard ratio war CA 19-9 bei beiden Cut-Offs und in beiden Kollektiven dem CEA überlegen. Somit können wir in erster Linie die Ergebnisse von Reiter et al. auch unter Berücksichtigung der ähnlichen Cut-off-Werte bestätigen.

Es gibt nur wenige Prognosestudien, die sich mit der prognostischen Aussagekraft von CA 19-9 bei kolorektalen Tumoren ohne Lymphknotenbefall befassen. Bei 145 Patienten mit kolorektalen Tumoren Stadium T1-T4 und N0 zeigte Nakagoe et al., dass CA 19-9 eine vom Stadium und der Lokalisation unabhängige prognostische Relevanz hatte (Nakagoe, 2003). CEA wurde in dieser Studie nicht untersucht.

In unserer Auswertung war CA 19-9 im Gegensatz dazu ohne prognostische Bedeutung für das rezidivfreie Intervall und das Überleben in der günstigen Prognosegruppe.

Laut der American Society of Clinical Oncology (ASCO) existieren nach wie vor ungenügend Hinweise, um CA 19-9 als geeigneten Tumormarker bei kolorektalen Karzinomen zu empfehlen (Bast, 2001). Den Ergebnissen unserer Arbeit zufolge, kann dies für die prognostische Wertigkeit des CA 19-9 beim kolorektalen Karzinom nicht bestätigt werden. Diese Ablehnung sollte anhand unserer Ergebnisse und weiterer prospektiver Studien erneut überprüft werden.

CA 242

Es ist unklar inwieweit präoperativ erhöhte CA 242-Werte Einfluss auf den postoperativen Krankheitsverlauf haben.

Während Carpelan-Holmström CA 242 als unabhängigen Prognosefaktor beim kolorektalen Karzinom beschrieb (Carpelan-Holmstrom, 1996), konnte dies von anderen Autoren nicht bestätigt werden (Lindmark, 1996; Louhimo, 2002).

In unserer Arbeit korrelierten erhöhte CA 242-Werte signifikant mit einem kürzeren rezidivfreien Intervall und Überleben in der ungünstigen Prognosegruppe. In der multivariaten Analyse wurde CA 242 erst dann ein unabhängiger Prognosefaktor, wenn CA 19-9 nicht berücksichtigt wurde. Übereinstimmend mit den Ergebnissen von Louhimo et al. zeigte sich eine hohe Korrelation ($r=0.79$) zwischen der CA 242- und der CA 19-9-Freisetzung (Louhimo, 2002), womit sich die Feststellung, dass innerhalb eines Cox-Modells jeweils nur einer der beiden Tumormarker Signifikanz erreicht, erklären lässt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass das CA 242 hinsichtlich prognostischer Aussagekraft keine Vorteile gegenüber dem CA 19-9 bringt, dass es aber im Falle fehlender CA 19-9-

Werte neben CEA als unabhängiger Prognosefaktor fungieren kann.

CA 72-4

In der bereits erwähnten Studie von Louhimo et al. wurden neben dem CA 242 auch andere Tumormarker untersucht, zu denen das CA 72-4 zählte. Bei den 204 Patienten mit kolorektalen Karzinomen Stadien Dukes A-D beeinflusste CA 72-4 signifikant das Überleben und war neben hCG β und CEA ein vom Tumorstaging unabhängiger Prognosefaktor (Louhimo, 2002).

In der vorliegenden Arbeit wurde die prognostische Aussagekraft von CA 72-4 bei kurativ resezierten kolorektalen Karzinomen untersucht. Präoperativ erhöhte CA 72-4-Werte hatten keinen Einfluss auf das rezidivfreie Intervall, waren aber von Bedeutung für das Überleben. In der multivariaten Analyse erreichte CA 72-4 erst nach Ausschluss von CEA und CA 19-9 bzw. CA 242 Signifikanz. Die Ergebnisse von Louhimo et al konnten für das Überleben von Patienten mit R0-Resektionen damit indirekt bestätigt werden. Da CA 72-4 keinerlei Einfluss auf das rezidivfreie Überleben hatte, bleibt dessen prognostische Relevanz fragwürdig.

An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, dass die Studie von Louhimo zu den wenigen Multiparameterstudien zählt. Aufgrund der sehr unterschiedlichen Kollektivzusammensetzung mit einem hohen Anteil metastasierter kolorektaler Karzinome ist ein Vergleich zu den Ergebnissen unserer Arbeit, in der metastasierte Karzinome nicht berücksichtigt wurden nur eingeschränkt möglich.

CYFRA 21-1

Neben dem Tissue Polypeptide Antigen (TPA), dem Tissue Polypeptide Specific Antigen (TPS) zählt auch CYFRA 21-1 zu den Tumormarkern, die serumlösliche Fragmente von Cytokeratinen messen. Während der TPA-Test Aufschluss über die Cytokeratine 8, 18 und 19 gibt, messen die Tumormarker TPS und CYFRA 21-1 nur die Fragmente des Cytokeratin 18 bzw. 19 (Barak, 2004). In den letzten Jahren wurde die Relevanz von TPA und TPS hinsichtlich Prognoseabschätzung beim kolorektalen Karzinom multivariat evaluiert (Lindmark, 1995; Carpelan-Holmstrom, 1996). Es wurde allerdings bislang nicht geklärt, ob der beim Bronchialkarzinom etablierte Tumormarker CYFRA 21-1 auch beim kolorektalen Karzinom als Prognosemarker geeignet ist.

In der vorliegenden Arbeit hatte CYFRA 21-1 keine prognostische Bedeutung für das rezidivfreie Intervall oder das Überleben der berücksichtigten 433 Patienten.

hCGβ

Erhöhte Serumkonzentrationen von hCGβ korrelierten in den Studien von Louhimo und Webb et al. sowohl uni- als auch multivariat mit einem signifikant schlechteren Überleben (Webb, 1995; Louhimo, 2002).

Diese Resultate ließen sich in dieser Arbeit nicht bestätigen. Es war nicht möglich irgendeinen signifikanten und reproduzierbaren Cut-Off-Wert zu bestimmen. hCGβ hatte für die weitere uni- und multivariate Auswertung keine Relevanz.

An dieser Stelle ist es wichtig darauf hinzuweisen, dass sich diese Auswertung auf kurativ und primär nicht-metastasierte kolorektale Karzinome beschränkt.

In den Studien von Webb und Louhimo wurden hingegen wie bereits vorher erwähnt auch Patienten berücksichtigt, die bereits bei Primärdiagnose Metastasen hatten. Bei Louhimo et al. lag bei 54 von insgesamt 204 Patienten bei Primärdiagnose das Stadium Dukes D vor.

Präoperativ erhöhte hCGβ-Konzentrationen scheinen dem zufolge vor allem in metastasierten Tumorerkrankungen prognostisch von Bedeutung zu sein.

S100

S100 ist der am Häufigsten verwendete Tumormarker beim malignen Melanom. In zahlreichen Studien ist die Relevanz dieses Markers bezüglich Prognose, Therapieplanung und Nachsorge belegt. Hinsichtlich der Bedeutung des S100 bei anderen malignen Erkrankungen ist bis dato wenig bekannt. Es konnte aber gezeigt werden, dass verschiedene S100-Proteine im Gewebe kolorektaler Karzinome stärker exprimiert werden, als im Gewebe benigner Adenome oder normaler Darmschleimhaut und dass die S100-Proteinexpression mit dem Tumorstadium korreliert (Takenaga, 1997; Komatsu, 2000; Komatsu, 2002).

Gongoll et al. untersuchten immunhistochemisch die S100-Expression in Gewebeproben kolorektaler Karzinome und fanden eine von anderen Parametern unabhängige prognostische Relevanz dieser Marker-Expression für das Überleben (Gongoll, 2002).

In der vorliegenden Auswertung war S100 in der Tat auch im Serum ein starker und stadienunabhängiger Prognosefaktor in der günstigen Prognosegruppe. Im Gegensatz zu den anderen prognostisch relevanten Tumormarkern zeigte sich ein reziproker Zusammenhang zwischen der Höhe der Freisetzung und der Prognose, das heißt, das eine niedrige Freisetzung von S100 prognostisch ungünstig ist. Bislang ist nicht vollständig geklärt, wie S100-Proteine mit anderen Zellen interagieren. Grigorian et al. zeigte vor kurzem, dass S100-Proteine an das Tumorsuppressorprotein p53 binden und folgerte daraus einen möglichen Einfluss dieser Proteine auf die p53-abhängige Apoptose von Tumorzellen (Grigorian, 2003).

Desweiteren hat sich in den letzten Jahren gezeigt, dass Dendritische Zellen S100-Proteine exprimieren.

Dendritische Zellen spielen eine große Rolle in der Immunantwort des Körpers und konnten in verschiedenen soliden Tumoren nachgewiesen werden. Die Infiltration unterschiedlicher Tumorerkrankungen, einschließlich kolorektaler Karzinome durch Dendritische Zellen war in verschiedenen Studien mit einem signifikant besseren Outcome assoziiert (Nakayama, 2003; Dadabayev, 2004). Es konnte gezeigt werden, dass S100 beim kolorektalen Karzinom ein geeigneter Marker für die Identifizierung dieser Zellen darstellt (Ambe, 1989).

Es ist unklar inwieweit sich die Ergebnisse von Grigorian, Dadabayev und Nakayama mit den Ergebnissen dieser Arbeit vergleichen lassen. Der Zusammenhang zwischen einer erniedrigten S100-Serumkonzentrationen und einer schlechteren Prognose lässt eine Bedeutung im Sinne der Tumorsuppression vermuten.

HGF

Der multipotente Faktor HGF, der als Ligand der Met Tyrosinkinase agiert, beeinflusst Wachstum, Motilität, Morphogenese und Angiogenese unterschiedlicher Zellen (To, 1998). In den letzten Jahren konnte gezeigt werden, dass HGF bei verschiedenen Karzinomen, wie zum Beispiel dem Mammakarzinom (Toi, 1998), dem Magenkarzinom (Taniguchi, 1998), dem Blasenkarzinom (Gohji, 2000), dem Bronchialkarzinom (Takigawa, 1997) und dem kolorektalen Karzinom (Fukuura, 1998) vermehrt freigesetzt wird. Tanaka et al. beschrieben HGF als klinisch relevanten Tumormarker beim Frühkarzinom des Magens (Tanaka, 2004). Die prognostische Aussagekraft des Serum-HGF beim kolorektalen Karzinom wurde bis dato nicht untersucht.

Die Auswertungen dieser Arbeit ergaben, dass HGF sowohl für die günstige als auch für die ungünstige Prognosegruppe ein unabhängiger Prädiktor war. Er war derjenige Parameter, der innerhalb der günstigen Gruppe den größten Einfluss auf das Überleben hatte.

Wurden in der multivariaten Analyse alle Tumormarker berücksichtigt, so erreichte HGF neben CA 242 bei der Auswertung des rezidivfreien Überlebens bzw. CA 19-9 bei der Auswertung des Überlebens als einziger Marker Signifikanz.

Als besonders wichtig ist die hohe prognostische Relevanz des HGF innerhalb der Gruppe der Patienten mit niedrigen Tumorstadien zu betrachten. So war das Risiko, an einem kolorektalen Karzinom zu versterben 4-fach erhöht, falls präoperativ erhöhte HGF-Werte vorlagen.

Prognose-Index

Um eine vereinfachte Risikostratifizierung zu ermöglichen, wurde der im Kapitel 3.1.4 beschriebene Prognose-Index für beide Prognosegruppen getrennt errechnet.

Sowohl die günstige, als auch die ungünstige Prognosegruppe wurde anhand ihres Prognoseindex in Tertile unterteilt.

Die entsprechenden Kaplan-Meier-Kurven zeigten in beiden Prognosegruppen eine Kurvendivergenz, die innerhalb der ungünstigen Prognosegruppe noch sehr viel stärker ausgeprägt war. Es ließen sich also innerhalb beider Gruppen Untergruppen mit jeweils unterschiedlicher Prognose identifizieren. Wurden die Kaplan-Meier-Kurven beider Prognosegruppen kombiniert, zeigte sich eine deutliche Überlappung der ursprünglichen Prognosegruppen. Somit befanden sich innerhalb der günstigen Prognosegruppe Patienten, die aufgrund Ihrer schlechteren Prognose eventuell eine Indikation für eine adjuvante Therapie hätten. Innerhalb der ungünstigen Prognosegruppe hingegen konnten Patienten identifiziert werden, die aufgrund einer verhältnismäßig guten Prognose vermutlich weniger von einer adjuvanten Chemotherapie profitieren als andere Patienten in dieser Gruppe.

Daraus lässt sich folgern, dass sich die nur auf pathologischen Gegebenheiten basierende Indikation für eine adjuvante Therapie durch Berücksichtigung von Tumormarkern weiter präzisieren lässt.

Mit Hilfe eines Prognoseindex lassen sich alle relevanten Parameter in einem Modell kombinieren. Die Höhe des Indexes könnte dann bei den Überlegungen bezüglich adjuvanter Therapie berücksichtigt werden.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Unter den Prognosefaktoren beim kolorektalen Karzinom hat das Tumorstaging den größten Stellenwert und dient der weiteren Therapieplanung. In den letzten Jahren wurden zunehmend auch Tumormarker hinsichtlich der prognostischen Aussagekraft untersucht, es existieren aber kaum Studien, die an großer Fallzahl mehrere Tumormarker im Vergleich zu den etablierten Prognosefaktoren multivariat evaluiert haben.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Tumormarker CEA, CA 19-9, CA 242, CA 72-4, CYFRA 21-1, hCG β , S100 und HGF hinsichtlich ihrer prognostischen Wertigkeit beim kolorektalen Karzinom analysiert. Die präoperativen Tumormarkerwerte von CEA und CA 19-9 lagen bei 1089 Patienten (**Kollektiv I**) vor. Bei einem Teil dieser Patienten (n=450) waren Restproben vorhanden, so dass retrospektiv zusätzlich die Tumormarker CA 242, CA 72-4, CYFRA 21-1, hCG β , S100 und HGF analysiert werden konnten (**Kollektiv II**).

Es zeigte sich bei allen Tumormarkern eine höhere Freisetzung mit zunehmender Tumordinfiltrationstiefe. Bei CEA und CA 19-9 wurde außerdem ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Serumkonzentration und dem Lymphknotenstatus festgestellt. Bezüglich der Korrelation der Tumormarker untereinander wurde der höchste Koeffizient für CA 19-9 und CA 242 errechnet ($r_s=0.79$).

Basierend auf den aktuellen Empfehlungen für adjuvante Therapien beim kolorektalen Karzinom wurde eine Unterteilung in Prognosegruppen vorgenommen:

In der günstigen Prognosegruppe (**GPG**) befanden sich Patienten mit einem Kolonkarzinom Stadium I-II oder Rektumkarzinom Stadium I, in der ungünstigen Prognosegruppe (**UPG**) befanden sich Patienten mit einem Kolonkarzinom Stadium III oder einem Rektumkarzinom Stadium II oder III. In Anlehnung an eine Studie von Harrison et al wurden zusätzlich alle Patienten mit einem Kolonkarzinom ohne Lymphknotenbefall gesondert betrachtet.

Ziel unserer Studie war es zu untersuchen, ob durch Berücksichtigung von Tumormarkern innerhalb der Prognosegruppen eine detailliertere prognostische Einschätzung mit entsprechender therapeutischer Konsequenz erfolgen kann. Dabei war unser primäres Zielkriterium das rezidivfreie Intervall, zusätzlich untersuchten wir das tumorbedingte Gesamtüberleben.

In der statistischen Auswertung wurde zunächst überprüft, ob eine lineare Abhängigkeit zwischen der Serumkonzentration der Tumormarker und dem Rezidivrisiko besteht. Eine solche Linearität konnte nur für CEA gezeigt werden, es ging daher in logarithmierter Form in die multivariate Analyse ein.

Bei den übrigen Tumormarkern musste ein Cut-Off gesucht werden, wobei in der vorliegenden Arbeit weder die herstellerüblichen Cut-Off-Werte verwendet wurden, noch nach dem für das Kollektiv optimalen Cut-Off gesucht wurde. Vielmehr wurde versucht, mittels Bootstrapverfahren reproduzierbare Cut-Offs zu ermitteln.

Nach unseren Ergebnissen ist CEA zu Recht als Kategorie I Prognosemarker klassifiziert worden. Dies konnte an großer Fallzahl und unter Berücksichtigung verschiedener anderer Tumormarker bestätigt werden.

Auch in der Gruppe der Patienten mit einer günstigen Prognose sowie der N0-Kolontumoren erwies sich CEA als unabhängiger Prognosefaktor. Die Patienten dieser Gruppen erhalten laut dem aktuellen Konsensus keine adjuvante Therapie. Basierend auf den Ergebnissen dieser Arbeit sollte CEA jedoch in den Leitlinien der American Society of Clinical Oncology als prognostisch relevanter Parameter berücksichtigt werden und auch in die Therapieplanung mit eingehen.

In der multivariaten Analyse hat sich darüber hinaus beim Kollektiv I gezeigt, dass neben CEA auch CA 19-9 ein stadienunabhängiger Prognosefaktor ist, jedoch nur für die ungünstige Prognosegruppe.

Innerhalb des Kollektivs II erreichten die Tumormarker CEA, CA 19-9, CA 242, CA 72-4, S100 und HGF Signifikanz.

Die beiden neuen und wenig erforschten Tumormarker S100 und HGF waren starke unabhängige Prädiktoren in der günstigen Prognosegruppe dieser Auswertung, sogar stärker als CEA. Dieses Ergebnis muss durch prospektive große Studien bestätigt werden.

Im Gegensatz zu S100 erreichte HGF auch in der ungünstigen Prognosegruppe Signifikanz, war aber bezüglich der prognostischen Aussagekraft dem CA 242 bzw. CA 19-9 unterlegen.

Gerade im Rahmen kommender Therapiestudien, bei denen der Einfluss neuer Medikamente auf die Angiogenese untersucht wird, könnte HGF von grossem Interesse sein.

Der Tumormarker CA 242 kann als äquivalenter Marker zum CA 19-9 gesehen werden, so dass die parallele Bestimmung beider Tumormarker primär nicht sinnvoll ist.

CA 72-4 erreichte in der uni- und multivariaten Analyse nur für das Überleben innerhalb der ungünstigen Prognosegruppe Signifikanz.

Die beiden Tumormarker hCG β und CYFRA 21-1 zeigten in dieser Arbeit keinerlei prognostische Bedeutung.

Um unsere Ergebnisse für die klinische Anwendung zusammenzufassen, wurde für alle prognostisch relevanten Faktoren ein Prognoseindex entwickelt und zwar zunächst anhand des großen Kollektivs I. In der günstigen Prognosegruppe beinhaltet dieser Score derzeit lediglich T und logCEA, in der ungünstigen Prognosegruppe T, N, Lokalisation des Primärtumors, logCEA und CA 19-9 (Cut-off 55 U/ml).

Eine Einteilung der Patienten bezüglich dieser Prognose-Scores zeigt eine deutliche Überlappung der ursprünglichen Prognosegruppen im Bezug auf das rezidivfreie Intervall. Daraus geht eindeutig hervor, dass die Bestimmung und Bewertung beider Tumormarker, also von CEA und von CA 19-9, sinnvoll ist und eine sehr viel genauere Prognoseabschätzung ermöglicht.

6 LITERATURVERZEICHNIS

- Akaike, H. (1974). A new look at the statistical model identification. **19**: 716-23.
- Allende, T., J. L. Garcia Muniz, F. Vizoso, J. M. Del Casar, P. Raigoso, et al. (2001). Preoperative serum levels of the carcinoembryonic antigen (CEA) and prognosis in colorectal cancer. *Rev.Esp.Med Nucl.* **20**(5): 358.
- Altman, D. G., B. Lausen, W. Sauerbrei and M. Schumacher (1994). Dangers of using "optimal" cutpoints in the evaluation of prognostic factors. *J.Natl.Cancer Inst.* **86**(11): 829.
- Ambe, K., M. Mori and M. Enjoji (1989). S-100 protein-positive dendritic cells in colorectal adenocarcinomas. Distribution and relation to the clinical prognosis. *Cancer* **63**(3): 496-503.
- Baldus, S. E. (2003). Clinical, pathological and molecular prognostic factors in colorectal carcinomas. *Pathologie* **24**(1): 49.
- Barak, V., H. Goike, K. W. Panaretakis and R. Einarsson (2004). Clinical utility of cytokeratins as tumor markers. *Clin.Biochem.* **37**(7): 529.
- Bast, R. C., Jr., P. Ravdin, D. F. Hayes, S. Bates, H. Fritsche, Jr., et al. (2001). 2000 update of recommendations for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer: clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology. *J.Clin.Oncol.* **19**(6): 1865.
- Becker, N. (2003). Epidemiology of colorectal cancer. *Radiologe* **43**(2): 98.
- Behbehani, A. I., H. Al Sayer, M. Farghaly, N. Kanawati, A. Mathew, et al. (2000). Prognostic significance of CEA and CA 19-9 in colorectal cancer in Kuwait. *Int J Biol Markers* **15**(1): 51.
- Bergstrom, A., P. Pisani, V. Tenet, A. Wolk and H. O. Adami (2001). Overweight as an avoidable cause of cancer in Europe. *Int J Cancer* **91**(3): 421.
- Berman, J. M., R. J. Cheung and D. S. Weinberg (2000). Surveillance after colorectal cancer resection. *Lancet* **355**(9201): 395-9.
- Bosman, F. T. (1995). Prognostic value of pathological characteristics of colorectal cancer. *Eur J Cancer* **31A**(7-8): 1216.
- Burkitt, D. P. and H. C. Trowell (1975). Refined carbohydrate foods and disease. London, Academic Press.
- Carpelan-Holmstrom, M., C. Haglund, P. Kuusela, H. Jarvinen and P. J. Roberts (1995).

- Preoperative serum levels of CEA and CA 242 in colorectal cancer. *Br J Cancer* **71**(4): 868.
- Carpelan-Holmstrom, M., C. Haglund, J. Lundin, H. Alfthan, U. H. Stenman, et al. (1996). Independent prognostic value of preoperative serum markers CA 242, specific tissue polypeptide antigen and human chorionic gonadotrophin beta, but not of carcinoembryonic antigen or tissue polypeptide antigen in colorectal cancer. *Br J Cancer* **74**(6): 925.
- Carpelan-Holmstrom, M., C. Haglund, J. Lundin, H. Jarvinen and P. Roberts (1996). Pre-operative serum levels of CA 242 and CEA predict outcome in colorectal cancer. *Eur J Cancer* **32A**(7): 1156.
- Carriquiry, L. A. and A. Pineyro (1999). Should carcinoembryonic antigen be used in the management of patients with colorectal cancer? *Dis Colon Rectum* **42**(7): 921.
- CEA (1994). Abbott Produktinformation CEA Tumormarker-Tests, AxSYM CEA. *Abbott*.
- Chao, A., M. J. Thun, E. J. Jacobs, S. J. Henley, C. Rodriguez, et al. (2000). Cigarette smoking and colorectal cancer mortality in the cancer prevention study II. *J Natl Cancer Inst* **92**(23): 1888.
- Chapuis, P. H., O. F. Dent, R. Fisher, R. C. Newland, M. T. Pheils, et al. (1985). A multivariate analysis of clinical and pathological variables in prognosis after resection of large bowel cancer. *Br J Surg* **72**(9): 698-702.
- Colditz, G. A., C. C. Cannuscio and A. L. Frazier (1997). Physical activity and reduced risk of colon cancer: implications for prevention. *Cancer Causes Control* **8**(4): 649.
- Collett, D. (1994). Modelling survival data in medical research. London, Chapman & Hall.
- Compton, C., C. M. Fenoglio-Preiser, N. Pettigrew and L. P. Fielding (2000). American Joint Committee on Cancer Prognostic Factors Consensus Conference: Colorectal Working Group. *Cancer* **88**(7): 1739.
- Compton, C. C. (2003). Colorectal carcinoma: diagnostic, prognostic, and molecular features. *Mod Pathol* **16**(4): 376.
- Compton, C. C., L. P. Fielding, L. J. Burgart, B. Conley, H. S. Cooper, et al. (2000). Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* **124**(7): 979.
- Cox, D. R. (1972). Regression models and life-tables. *J R Stat Soc* **34**: 187-200.
- Dadabayev, A. R., M. H. Sandel, A. G. Menon, H. Morreau, C. J. Melief, et al. (2004). Dendritic cells in colorectal cancer correlate with other tumor-infiltrating immune cells. *Cancer Immunol Immunother* **53**(11): 978-86.

- Davies, B. R., M. O'Donnell, G. C. Durkan, P. S. Rudland, R. Barraclough, et al. (2002). Expression of S100A4 protein is associated with metastasis and reduced survival in human bladder cancer. *J Pathol* **196**(3): 292-9.
- Diez, M., F. J. Cerdan, M. Pollan, M. L. Maestro, M. D. Ortega, et al. (1994). Prognostic significance of preoperative serum CA 19.9 assay in patients with colorectal carcinoma. *Anticancer Res* **14**(6B): 2819.
- Donato, R. (2001). S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles. *Int J Biochem Cell Biol* **33**(7): 637.
- Donato, R. (2003). Intracellular and extracellular roles of S100 proteins. *Microsc. Res Tech.* **60**(6): 540.
- Duffy, M. J. (2001). Carcinoembryonic antigen as a marker for colorectal cancer: is it clinically useful? *Clin Chem* **47**(4): 624.
- Duffy, M. J., A. van Dalen, C. Haglund, L. Hansson, R. Klapdor, et al. (2003). Clinical utility of biochemical markers in colorectal cancer: European Group on Tumour Markers (EGTM) guidelines. *Eur J Cancer* **39**(6): 718.
- Dukes, C. (1932). The classification of cancer of the rectum. *J. Pathol. Bacteriol.* **32**(323).
- Eickhoff, A., C. Maar, B. Birkner and J. F. Riemann (2003). Dickdarmkrebs in Deutschland Vorsorge- und Früherkennungsmaßnahmen: Implikationen für Laien und Ärzte. *Springer, Berlin Heidelberg New York*.
- Filella, X., R. Molina, J. M. Pique, J. C. Garcia-Valdecasas, J. J. Grau, et al. (1994). Use of CA 19-9 in the early detection of recurrences in colorectal cancer: comparison with CEA. *Tumour Biol* **15**(1): 1.
- Flatmark, K., K. B. Pedersen, J. M. Nesland, H. Rasmussen, G. Aamodt, et al. (2003). Nuclear localization of the metastasis-related protein S100A4 correlates with tumour stage in colorectal cancer. *J Pathol* **200**(5): 589.
- Franceschi, S. and C. La Vecchia (1994). Alcohol and the risk of cancers of the stomach and colon-rectum. *Dig Dis* **12**(5): 276-89.
- Fujita, S., T. Shimoda, K. Yoshimura, S. Yamamoto, T. Akasu, et al. (2003). Prospective evaluation of prognostic factors in patients with colorectal cancer undergoing curative resection. *J.Surg.Oncol.* **84**(3): 127.
- Fukuura, T., C. Miki, T. Inoue, K. Matsumoto and H. Suzuki (1998). Serum hepatocyte growth factor as an index of disease status of patients with colorectal carcinoma. *Br J Cancer* **78**(4): 454-9.

- Giovannucci, E. (2001). An updated review of the epidemiological evidence that cigarette smoking increases risk of colorectal cancer. *Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev.* **10**(7): 725.
- Gohji, K., M. Nomi, Y. Niitani, S. Kitazawa, A. Fujii, et al. (2000). Independent prognostic value of serum hepatocyte growth factor in bladder cancer. *J Clin Oncol* **18**(16): 2963-71.
- Gold, P. and S. O. Freedman (1965). Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system. *J.Exp.Med.* **122**(3): 467.
- Gongoll, S., G. Peters, M. Mengel, P. Piso, J. Klempnauer, et al. (2002). Prognostic significance of calcium-binding protein S100A4 in colorectal cancer. *Gastroenterology* **123**(5): 1478.
- Graham, R. A., S. Wang, P. J. Catalano and D. G. Haller (1998). Postsurgical surveillance of colon cancer: preliminary cost analysis of physician examination, carcinoembryonic antigen testing, chest x-ray, and colonoscopy. *Ann.Surg.* **228**(1): 59.
- Grigorian, M. and E. Lukanidin (2003). [Activator of metastasis in cancer cells, Mst1/S100A4 protein binds to tumor suppressor protein p53]. *Genetika* **39**(7): 900-8.
- Haglund, C., J. Lindgren, P. J. Roberts, P. Kuusela and S. Nordling (1989). Tissue expression of the tumour associated antigen CA242 in benign and malignant pancreatic lesions. A comparison with CA 50 and CA 19-9. *Br J Cancer* **60**(6): 845.
- Hall, N. R., P. J. Finan, B. M. Stephenson, D. A. Purves and E. H. Cooper (1994). The role of CA-242 and CEA in surveillance following curative resection for colorectal cancer. *Br J Cancer* **70**(3): 549-53.
- Hammarstrom, S. (1999). The carcinoembryonic antigen (CEA) family: structures, suggested functions and expression in normal and malignant tissues. *Semin Cancer Biol* **9**(2): 67.
- Harrison, L. E., J. G. Guillem, P. Paty and A. M. Cohen (1997). Preoperative carcinoembryonic antigen predicts outcomes in node-negative colon cancer patients: a multivariate analysis of 572 patients. *J Am Coll Surg* **185**(1): 55.
- Hasholzner, U., P. Stieber, W. Reiter, A. Zimmermann, K. Hofmann, et al. (1999). CA 242 in comparison with established tumour markers in colorectal, pancreatic and lung cancer. *Anticancer Res* **19**(4A): 2477.
- Henson, D. E., L. P. Fielding, D. J. Grignon, D. L. Page, M. E. Hammond, et al. (1995). College of American Pathologists Conference XXVI on clinical relevance of prognostic markers in solid tumors. Summary. Members of the Cancer Committee. *Arch.Pathol.Lab Med.* **119**(12): 1109.

- Hermanek, P., H. Wiebelt, D. Staimmer and S. Riedl (1995). Prognostic factors of rectum carcinoma--experience of the German Multicentre Study SGCRC. German Study Group Colo-Rectal Carcinoma. *Tumori* **81**(3 Suppl): 60-4.
- Heslin, M. J., H. Medina-Franco, M. Parker, S. M. Vickers, J. Aldrete, et al. (2001). Colorectal hepatic metastases: resection, local ablation, and hepatic artery infusion pump are associated with prolonged survival. *Arch Surg* **136**(3): 318.
- HGF R&D Systems Quantikine Human HGF Immunoassay.
- Junginger, T., D. Hossfeld, R. Sauer and P. Hermanek (1999). Aktualisierter Konsensus der CAO/AIO/ARO zur adjuvanten und neoadjuvanten Therapie bei Kolon- und Rektumkarzinom. *Dtsch. Ärztebl* **96**: 698-700.
- Kaplan, E. L. and P. Meier (1958). Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc*(53): 457-48.
- Kimura, K., Y. Endo, Y. Yonemura, C. W. Heizmann, B. W. Schafer, et al. (2000). Clinical significance of S100A4 and E-cadherin-related adhesion molecules in non-small cell lung cancer. *Int J Oncol* **16**(6): 1125-31.
- Komatsu, K., A. Andoh, S. Ishiguro, N. Suzuki, H. Hunai, et al. (2000). Increased expression of S100A6 (Calcyclin), a calcium-binding protein of the S100 family, in human colorectal adenocarcinomas. *Clin Cancer Res* **6**(1): 172-7.
- Komatsu, K., K. Murata, M. Kameyama, M. Ayaki, M. Mukai, et al. (2002). Expression of S100A6 and S100A4 in matched samples of human colorectal mucosa, primary colorectal adenocarcinomas and liver metastases. *Oncology* **63**(2): 192.
- Kuusela, P., C. Haglund and P. J. Roberts (1991). Comparison of a new tumour marker CA 242 with CA 19-9, CA 50 and carcinoembryonic antigen (CEA) in digestive tract diseases. *Br J Cancer* **63**(4): 636.
- Lehnert, T., A. Schaible and C. Herfarth (1999). Onkologische Prinzipien beim Kolonkarzinom. *Der Chirurg* **70**: 499.
- Lindmark, G., R. Bergstrom, L. Pahlman and B. Glimelius (1995). The association of preoperative serum tumour markers with Dukes' stage and survival in colorectal cancer. *Br J Cancer* **71**(5): 1090.
- Lindmark, G., U. Kressner, R. Bergstrom and B. Glimelius (1996). Limited clinical significance of the serum tumour marker Ca 72-4 in colorectal cancer. *Anticancer Res* **16**(2): 895.
- Louhimo, J., M. Carpelan-Holmstrom, H. Alfthan, U. H. Stenman, H. J. Jarvinen, et al. (2002). Serum HCG beta, CA 72-4 and CEA are independent prognostic factors in

- colorectal cancer. *Int J Cancer* **101**(6): 545.
- Lundin, M., S. Nordling, J. Lundin, H. Alfthan, U. H. Stenman, et al. (2001). Tissue expression of human chorionic gonadotropin beta predicts outcome in colorectal cancer: a comparison with serum expression. *Int J Cancer* **95**(1): 18.
- Marsoni, S. (1995). Fluorouracil and folinic acid in colon cancer. IMPACT Investigators. *Lancet* **345**(8964): 1582.
- McLeod, H. L. and G. I. Murray (1999). Tumour markers of prognosis in colorectal cancer. *Br J Cancer* **79**(2): 191.
- Michelassi, F., J. J. Ayala, T. Balestracci, R. Goldberg, R. Chappell, et al. (1991). Verification of a new clinicopathologic staging system for colorectal adenocarcinoma. *Ann Surg* **214**(1): 11-8.
- Moertel, C. G., T. R. Fleming, J. S. Macdonald, D. G. Haller, J. A. Laurie, et al. (1990). Levamisole and fluorouracil for adjuvant therapy of resected colon carcinoma. *N Engl J Med* **322**(6): 352-8.
- Moertel, C. G., T. R. Fleming, J. S. Macdonald, D. G. Haller, J. A. Laurie, et al. (1993). An evaluation of the carcinoembryonic antigen (CEA) test for monitoring patients with resected colon cancer. *JAMA* **270**(8): 943.
- Nakagoe, T., T. Sawai, H. Ayabe, T. Nakazaki, H. Ishikawa, et al. (2001). Prognostic value of carcinoembryonic antigen (CEA) in tumor tissue of patients with colorectal cancer. *Anticancer Res* **21**(4B): 3031.
- Nakagoe, T., T. Sawai, T. Tsuji, M. A. Jibiki, A. Nanashima, et al. (2003). Preoperative serum level of CA19-9 predicts recurrence after curative surgery in node-negative colorectal cancer patients. *Hepatogastroenterology* **50**(51): 696.
- Nakayama, Y., Y. Inoue, N. Minagawa, T. Katsuki, N. Nagashima, et al. (2003). Relationships between S-100 protein-positive cells and clinicopathological factors in patients with colorectal cancer. *Anticancer Res* **23**(6a): 4423-6.
- Newland, R. C., O. F. Dent, M. N. Lyttle, P. H. Chapuis and E. L. Bokey (1994). Pathologic determinants of survival associated with colorectal cancer with lymph node metastases. A multivariate analysis of 579 patients. *Cancer* **73**(8): 2076-82.
- Nicum, S., R. Midgley and D. J. Kerr (2003). Colorectal cancer. *Acta Oncol* **42**(4): 263-75.
- Ninomiya, I., T. Ohta, S. Fushida, Y. Endo, T. Hashimoto, et al. (2001). Increased expression of S100A4 and its prognostic significance in esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol* **18**(4): 715-20.
- Northover, J. M. (1997). Staging and management of colorectal cancer. *World J Surg* **21**(7):

672-7.

- Otto, H. and W. Remmele (1996). Kolon und Rektum. Pathologie, Bd 2. R. W. Berlin Heidelberg New York Tokio, Springer: 645-659.
- Park, Y. J., K. J. Park, J. G. Park, K. U. Lee, K. J. Choe, et al. (1999). Prognostic factors in 2230 Korean colorectal cancer patients: analysis of consecutively operated cases. *World J Surg* **23**(7): 721.
- Parkin, D. M. (2001). Global cancer statistics in the year 2000. *Lancet Oncol* **2**(9): 533.
- Party., M. R. C. R. C. W. (1996). Randomised trial of surgery alone versus surgery followed by radiotherapy for mobile cancer of the rectum. *Lancet* **348**(9042): 1610-4.
- Passing, H. and W. Bablok (1984). Comparison of several regression procedures for method comparison studies and determination of sample sizes. Application of linear regression procedures for method comparison studies in Clinical Chemistry, Part II. *J Clin Chem Clin Biochem* **22**(6): 431-45.
- Pietra, N., L. Sarli, R. Costi, C. Ouchemi, M. Grattarola, et al. (1998). Role of follow-up in management of local recurrences of colorectal cancer: a prospective, randomized study. *Dis Colon Rectum* **41**(9): 1127-33.
- Primus, F. J., E. A. Kelley, H. J. Hansen and D. M. Goldenberg (1988). "Sandwich"-type immunoassay of carcinoembryonic antigen in patients receiving murine monoclonal antibodies for diagnosis and therapy. *Clin Chem* **34**(2): 261.
- Reiter, W., P. Stieber, C. Reuter, D. Nagel, C. Cramer, et al. (1997). Prognostic value of preoperative serum levels of CEA, CA 19-9 and CA 72-4 in gastric carcinoma. *Anticancer Res* **17**(4B): 2903.
- Reiter, W., P. Stieber, C. Reuter, D. Nagel, U. Lau-Werner, et al. (2000). Multivariate analysis of the prognostic value of CEA and CA 19-9 serum levels in colorectal cancer. *Anticancer Res* **20**(6D): 5195.
- Riboli, E. (1992). Nutrition and cancer: background and rationale of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Ann Oncol* **3**(10): 783-91.
- RKI (2004). Krebs in Deutschland, Robert Koch Institut. Saarbrücken, Robert Koch Institut.
- Rodriguez-Bigas, M. A., C. R. Boland, S. R. Hamilton, D. E. Henson, J. R. Jass, et al. (1997). A National Cancer Institute Workshop on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome: meeting highlights and Bethesda guidelines. *J Natl Cancer Inst* **89**(23): 1758-62.
- Rudland, P. S., A. Platt-Higgins, C. Renshaw, C. R. West, J. H. Winstanley, et al. (2000). Prognostic significance of the metastasis-inducing protein S100A4 (p9Ka) in human

- breast cancer. *Cancer Res* **60**(6): 1595.
- Schumacher, M., N. Hollander and W. Sauerbrei (1997). Resampling and cross-validation techniques: a tool to reduce bias caused by model building? *Stat.Med.* **16**(24): 2813.
- Sheen-Chen, S. M., Y. W. Liu, H. L. Eng and F. F. Chou (2005). Serum levels of hepatocyte growth factor in patients with breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **14**(3): 715-7.
- Stieber, P., U. Hasholzner, H. Bodenmuller, D. Nagel, L. Sunder-Plassmann, et al. (1993). CYFRA 21-1. A new marker in lung cancer. *Cancer* **72**(3): 707.
- Takenaga, K., H. Nakanishi, K. Wada, M. Suzuki, O. Matsuzaki, et al. (1997). Increased expression of S100A4, a metastasis-associated gene, in human colorectal adenocarcinomas. *Clin Cancer Res* **3**(12 Pt 1): 2309-16.
- Takigawa, N., Y. Segawa, Y. Maeda, I. Takata and N. Fujimoto (1997). Serum hepatocyte growth factor/scatter factor levels in small cell lung cancer patients. *Lung Cancer* **17**(2-3): 211-8.
- Tanaka, K., R. Adam, H. Shimada, D. Azoulay, F. Levi, et al. (2003). Role of neoadjuvant chemotherapy in the treatment of multiple colorectal metastases to the liver. *Br J Surg* **90**(8): 963.
- Tanaka, K., C. Miki, R. Wakuda, M. Kobayashi, H. Tonouchi, et al. (2004). Circulating level of hepatocyte growth factor as a useful tumor marker in patients with early-stage gastric carcinoma. *Scand J Gastroenterol* **39**(8): 754-60.
- Taniguchi, K., Y. Yonemura, N. Nojima, Y. Hirono, S. Fushida, et al. (1998). The relation between the growth patterns of gastric carcinoma and the expression of hepatocyte growth factor receptor (c-met), autocrine motility factor receptor, and urokinase-type plasminogen activator receptor. *Cancer* **82**(11): 2112-22.
- Taylor, S., S. Herrington, W. Prime, P. S. Rudland and R. Barraclough (2002). S100A4 (p9Ka) protein in colon carcinoma and liver metastases: association with carcinoma cells and T-lymphocytes. *Br J Cancer* **86**(3): 409.
- To, C. T. and M. S. Tsao (1998). The roles of hepatocyte growth factor/scatter factor and met receptor in human cancers (Review). *Oncol Rep* **5**(5): 1013-24.
- Toi, M., T. Taniguchi, T. Ueno, M. Asano, N. Funata, et al. (1998). Significance of circulating hepatocyte growth factor level as a prognostic indicator in primary breast cancer. *Clin Cancer Res* **4**(3): 659-64.
- Tominaga, T., T. Sakabe, Y. Koyama, K. Hamano, M. Yasutomi, et al. (1996). Prognostic factors for patients with colon or rectal carcinoma treated with resection only. Five-

- year follow-up report. *Cancer* **78**(3): 403.
- Tumorzentrum (2001). Empfehlung zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge: Gastrointestinale Tumoren. 6. Aufl. 2001.
- UICC (1997). UICC: TNM Klassifikation maligner Tumoren, 5. Auflage (1997) In: Wittekind Ch, Wagner G (Hrsg) Springer, Berlin Heidelberg New York.
- Vasen, H. F., J. P. Mecklin, P. M. Khan and H. T. Lynch (1991). The International Collaborative Group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC). *Dis Colon Rectum* **34**(5): 424-5.
- Wang, W. S., J. K. Lin, T. J. Chiou, J. H. Liu, F. S. Fan, et al. (2000). Preoperative carcinoembryonic antigen level as an independent prognostic factor in colorectal cancer: Taiwan experience. *Jpn J Clin Oncol* **30**(1): 12-6.
- Webb, A., P. Scott-Mackie, D. Cunningham, A. Norman, J. Andreyev, et al. (1995). The prognostic value of CEA, beta HCG, AFP, CA125, CA19-9 and C-erb B-2, beta HCG immunohistochemistry in advanced colorectal cancer. *Ann Oncol* **6**(6): 581.
- Yonemura, Y., Y. Endou, K. Kimura, S. Fushida, E. Bandou, et al. (2000). Inverse expression of S100A4 and E-cadherin is associated with metastatic potential in gastric cancer. *Clin Cancer Res* **6**(11): 4234-42.
- Yuste, A. L., J. Aparicio, A. Segura, P. Lopez-Tendero, R. Girones, et al. (2003). Analysis of clinical prognostic factors for survival and time to progression in patients with metastatic colorectal cancer treated with 5-fluorouracil-based chemotherapy. *Clin Colorectal Cancer* **2**(4): 231-4.

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Klinische Chemie, Universitätsklinikum München – Großhadern – der Ludwig-Maximilians-Universität (Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. D. Seidel) durchgeführt.

Mein Dank gilt:

- Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. D. Seidel für die Überlassung des Themas und die Gewährung der Arbeitsmöglichkeiten am Institut für Klinische Chemie.
- Frau Dr. med. Petra Stieber für die intensive Betreuung während der Arbeit, die lehrreichen Diskussionen sowie die fachliche Unterstützung und Förderung.
- Frau Dr. rer. nat. Dorothea Nagel für die hilfreiche Beratung und kenntnisreiche Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Daten.
- Frau Dr. U. Lau-Werner und Herrn Dr. H. Hornung für die Überlassung der Krankenakten.
- Herrn PD. Dr. M. Wichmann, Assistenzarzt der Chirurgischen Klinik am Klinikum Großhadern, Herrn Prof. Dr. A. Schalhorn, ehemaliger Oberarzt der Medizinischen Klinik III am Klinikum Großhadern, Herrn PD. Dr. V. Heinemann, Oberarzt der Medizinischen Klinik III am Klinikum Großhadern für die konstruktive Kooperation und hilfreiche Beratung.
- Den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Arbeitsgruppe „Onkologische Labordiagnostik“ für Ihre Hilfsbereitschaft und Unterstützung.
- Meiner Familie und meinen Freunden für ihre Geduld und Unterstützung.

Lebenslauf:**Dominik Hofmann**

Geboren: Am 21.06.1976 in München

Schulbildung:

1982-86: Grundschule in München

1986-1995 Städtisches Heinrich-Heine-Gymnasium, München

Berufliche Ausbildung:

1998-2004: Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

2003-2004: Praktisches Jahr:

1. Tertial Chirurgie, Hospital universitario de Elche, Spanien

2. Tertial Innere Medizin, Krankenhaus Schwabing und Hôpital St. Eloi
Montpellier, Frankreich

3. Tertial Urologie, Klinikum Innenstadt

21.10.2004: Ärztliche Prüfung

18.01.2005: Approbation

Seit 04/05: Assistenzarzt an der Urologischen Klinik, Klinikum Ingolstadt